

ISSN 1726-9784

РОССИЙСКИЙ БИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ И НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

№2 Том 11 2012 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, академик 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_rbi@mail.ru
Интернет-версия: www.ronc.ru/1915

Подписной индекс 81679

Объем 4,5 усл.-печ. листов,
подписано в печать 28.04.2012
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:

Материалы XI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием
«Отечественные противоопухолевые препараты (экспериментальная онкология)»
Нижегород, 31 мая – 1 июня 2012

ТЕЗИСЫ

Д.А. Адамчик¹, П.М. Бычковский¹, Т.Л. Юркитович¹, А.К. Хрипунов², Р.Ю. Смыслов², Е.Н. Александрова³

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ЦИСПЛАТИНА И ПРОСПИДИНА, ИММОБИЛИЗОВАННЫХ НА ОКИСЛЕННОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЕ

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

²Институт высокомолекулярных соединений РАН, Россия, Санкт-Петербург

³ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова», Республика Беларусь, Минск

Задачи исследования. Изучение противоопухолевой активности цисплатина и проспидина, иммобилизованных окисленной бактериальной целлюлозой, *in vitro* на монослойной культуре опухолевых клеток *HeLa*.

Материалы и методы. В качестве полимерной матрицы для цитостатиков была использована модифицированная в течение 48 часов при 17 °С растворами оксида азота (IV) в хлороформе (15 % масс.) бактериальная целлюлоза, синтезированная бактериями *Acetobacter xylinum*. В качестве действующих веществ были использованы фармакопейные субстанции цисплатина и проспидина. Иммобилизация цисплатина окисленной бактериальной целлюлозой изучалась методами ВЭЖХ, ИК-спектроскопии, методом потенциометрического титрования.

Результаты и выводы. Установлено, что иммобилизация цисплатина окисленной бактериальной целлюлозой из водных растворов протекает преимущественно по ионообменному механизму и определяющую роль в процессе связывания цитостатика играют ион-ионные взаимодействия.

Полученные данные о влиянии образцов с цисплатином и проспидином на рост культуры опухолевых клеток *HeLa* показывают, что противоопухолевая активность цитостатиков при их иммобилизации на окисленной бактериальной целлюлозе сохраняется на достаточно высоком уровне. По критерию торможения пролиферации опухолевых клеток *HeLa* образцы модифицированной полимерной матрицы с цисплатином и проспидином близки по активности к нативному цисплатину и проспидину в растворе, что может быть связано с определенной цитотоксичностью самого полимерного носителя вследствие наличия «подкисляющих среду» карбоксильных групп, а также достаточно быстрой скоростью высвобождения ударной дозы цитостатиков в раствор. Установлено также, что противоопухолевая активность образцов нативной бактериальной целлюлозы с цитостатиками на порядок ниже, чем у образцов с модифицированным полимерным носителем, что может быть обусловлено гораздо меньшим содержанием действующих веществ в нативной бактериальной целлюлозе и отсутствием в ней карбоксильных групп.

С.М. Адекенов¹, С.Е. Есентаева², И.М. Омарова³, В.Б. Сирота³

К МНОГОЦЕНТРОВЫМ РАНДОМИЗИРОВАННЫМ КЛИНИЧЕСКИМ ИСПЫТАНИЯМ ПРЕПАРАТА «АРГЛАБИН»

¹Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», Караганда, Республика Казахстан

²Казахский научно-исследовательский институт онкологии и радиологии МЗ РК, Алматы, Р. Казахстан

³Карагандинский государственный медицинский университет МЗ, Караганда, Республика Казахстан

Арглабин – оригинальный противоопухолевый препарат, разработанный на основе одноименного сесквитерпенового γ -лактона из эндемичного вида растения - полынь гладкая (*Artemisia glabella* Kar. et Kir.). За период 2000-2010 годы в онкологических центрах дальнего зарубежья и СНГ препарат арглабин испытан в условиях клиники на более 3000 онкологических больных. При этом эффект в клинике составил 76%. У инкурабельных больных при применении арглабина в дозе 10 мг/кг и в дозе 15 мг/кг наблюдается хорошая переносимость препарата. Результаты клинических испытаний показали, что препарат арглабин по механизму действия больше относится к таргетным препаратам, т.е. идет не прямое действие на опухолевую клетку, а на пути передачи опухолевого сигнала, а именно, ингибирует синтез фарнезилтрансферазы. Арглабин имеет достаточно высокий показатель времени удерживания в организме, при однократном внутривенном введении препарат выводится из организма через 22 часа, накапливается в большей степени в печени, легких, соединительной ткани, костях. Для изучения непосредственных и отдаленных результатов применения оригинального лекарственного препарата арглабин в комплексной терапии больных раком молочной железы с люминальным А типом опухоли впервые будут проводиться многоцентровые рандомизированные исследования данного препарата на 500 больных на базах Казахского научно-исследовательского института онкологии и радиологии (г.Алматы), клиники Западно-Казахстанского государственного медицинского университета (г.Актобе), Карагандинского государственного медицинского университета и Карагандинского областного онкологического диспансера. Проведение многоцентровых рандомизированных контролируемых исследований повысит степень доказательности эффективности оригинального лекарственного препарата арглабин и позволит включить его в стандарты лечения онкологических больных.

С.М. Адекенов¹, Н.Д. Веряскина², А.Ф. Лазарев², С.Ш. Найзабекова³, Т.А. Абдылдаев³

ПРИМЕНЕНИЕ АРГЛАБИНА

ПРИ ЛЕЧЕНИИ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

¹АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», Караганда, Республика Казахстан

²ГУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер», Барнаул, Российская Федерация

³Национальный центр онкологии МЗ Кыргызской Республики, Бишкек, Кыргызская Республика

Задачи исследования. Изучение радиосенсибилизирующего действия препарата арглабин при лечении местно-распространенного рака шейки матки

Материалы и методы. На базе Карагандинского областного онкологического диспансера (Караганда), Национального центра онкологии Кыргызской Республики (Бишкек), Алтайского краевого онкологического диспансера (Барнаул) исследования проведены на 74 больных раком шейки матки, в контрольную группу вошли 40 больных, которые получали стандартное лечение без препарата арглабин. Арглабин вводили в дозе 10 мг/кг внутривенно, одномоментно, медленно, в виде 2%-го раствора, за 20 минут до сеанса лучевой терапии (ЛТ) ежедневно. Эффективность лечения оценивалась по стандартным критериям ВОЗ.

Результаты и выводы. Изучение непосредственных результатов клинического эффекта в исследуемой группе показало: полная регрессия опухоли у 7 из 74 больных (9,5 %), частичная регрессия опухоли у 43 (58,1 %) больных, у 24 (32,4 %) – отмечена стабилизация процесса. Общая эффективность (полная, частичная регрессия) составила 67,6 %. При цитологическом исследовании цитопатоморфоз зафиксирован у 18 из 30 больных (60 %), получавших лечение с арглабином, а в группе контроля – 9 больных (30 %). Токсичность проведенного режима химиотерапии с арглабином была умеренной. Ни у одной больной не отмечено явлений фебрильной нейтропении. При анализе цитогамм выявлены признаки дисплазии, дистрофии и лизиса опухолевых клеток у большинства пациенток, чего не наблюдали у больных контрольной группы. Выявлено, что арглабин обладает радиосенсибилизирующим действием, увеличивая частоту регрессий опухоли и частоту лечебного патоморфоза по сравнению с контрольной группой. Проведенные исследования свидетельствуют о перспективности применения оригинального лекарственного препарата арглабин при лечении местно-распространенного рака шейки матки.

К.Х. Алмагамбетов¹, З.С. Сармурзина¹, Н.Б. Молдагулова¹, С.М. Адекенов²

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ АРГЛАБИНА

¹Республиканская коллекция микроорганизмов, Астана, Республика Казахстан

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

Впервые изучена антимикробная (антибактериальная, противогрибковая и противовирусная) сесквитерпенового лактона арглабина и его производных (гидрохлорид диметиламиноарглабина, тетрабромкарбенпроизводное арглабина, метилйодид диметиламиноарглабина) по отношению к тест-культурам *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* и *Escherichia coli* методом диффузии в агар (метод «лунок»). Арглабин и его производные проявили умеренную антимикробную активность (зона задержки роста тест-культур 14 – 16 мм), в сравнении с препаратами линкомицином и гентамицином (23 – 26 мм). Также арглабин и его производные показали выраженную способность подавлять рост патогенных грибов (*Aspergillus flavus*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis*), сравнимую с активностью нистатина. Арглабин нативный проявляет ингибирующую активность в концентрации от 0,02 до 0,000032 г/мл по отношению к резидентным и транзиторным представителям микрофлоры кишечного биотопа (*Lactobacillus fermentum*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella ozaenae* и *Escherichia coli*). Арглабин нативный в дозе 0,02 г/мл угнетает жизнеспособность вышеперечисленных микроорганизмов, ингибирует антагонистическую активность лактобацилл, гемолитические свойства *Streptococcus pyogenes* и плазмокоагуляционную способность *Staphylococcus aureus*. На культуре клеток человека изучено ингибирующее вирусную репродукцию свойство арглабина. При низкой цитотоксичности в дозе 100 мкг арглабин проявляет 100%-ный ингибирующий эффект в отношении вируса гриппа типа А. Также установлено, что сесквитерпеновый лактон арглабин препятствует заражению вирусом иммунодефицита клеток перевиваемой линии лимфоцитов человека. Показано снижение репродукции вируса геморрагической лихорадки и вируса полиодроза ядер на 90 – 98 % при совместной инкубации этих вирусов с арглабином на перевиваемых культурах клеток. Таким образом, антимикробная активность арглабина и его производных зависит как от особенностей строения их молекулы, так и от таксономической принадлежности микроорганизмов.

А.В. Алясова, К.Н. Конторщикова, И.Г. Терентьев, С.Н. Цыбусов

ВЛИЯНИЕ ОЗОНИРОВАННОГО ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО РАСТВОРА И ДОКСОРУБИЦИНА НА ОБМЕН МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ОРГАНИЗМЕ ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЯ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород

Цель исследования. Выявить особенности сочетанного действия озонированного физиологического раствора и доксорубина на обмен микроэлементов в организме опухоленосителя в экспериментальных условиях. **Материалы и методы.** Исследование выполнено на лабораторных животных – белых нелинейных крысах-самках (75 особей) в условиях моделирования неоплазии путем перевивки штамма рака молочной железы РМК-1. Животные были разделены на 5 групп по 15 особей в каждой: 1 группа – крысы с неоплазией, не подвергавшиеся каким-либо лечебным воздействиям; 2 группа – крысы с неоплазией, получавшие доксорубин; 3 группа – крысы с неоплазией, которым вводили озонированный физиологический раствор (ОФР); 4 группа – крысы с неоплазией, получавшие через день доксорубин и ОФР; 5 группа – интактные животные. На 11 день после декапитации животных осуществляли забор тканей: крови, печени, почек, легких, мозга, опухоли. Для определения спектра микроэлементов использовался атомно-эмиссионный спектрометр. **Результаты.** Введение доксорубина оказывало выраженное металлодепрессивное действие, что проявлялось статистически значимым снижением концентрации цинка, меди, железа в опухолевой ткани и во всех патологически неизмененных исследованных тканях. Сочетанное введение ОФР и доксорубина способствовало снижению выраженности металлодепрессивного действия цитостатика, что проявлялось в достоверном повышении концентрации микроэлементов в тканях на фоне возрастания концентрации металлов в опухоли. По данным гистологического исследования в 4 группе наблюдалось наиболее выраженное повреждающее воздействие на опухолевую ткань, что проявлялось статистически значимым снижением числа жизнеспособных элементов, и достижением более глубоких проявлений терапевтического патоморфоза. По-видимому выявленное перераспределение микроэлементов в организме опухоленосителя является оптимальным для достижения выраженного эффекта противоопухолевой терапии. **Заключение.** Таким образом, использование озонированного физиологического раствора снижает проявление металлодепрессивного действия доксорубина в отношении нормальных тканей, обеспечивая более эффективный микроэлементный состав, что сопровождается потенцированием действия противоопухолевой терапии и ассоциируется с наиболее выраженными проявлениями терапевтического патоморфоза.

Н.В. Андропова¹, Е.М. Трещалина¹, В.С. Косоруков¹, К.А. Скрыпник¹, Т.В. Комарова², Ю.Л. Дорохов²

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ СУБСТАНЦИИ ФИТОГЕРМАБА – РЕКОМБИНАНТНЫХ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ ПРОТИВ HER2/NEU ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОДУЦЕНТА

¹ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Введение. Субстанция рекомбинантных гуманизированных МКА против *Her2/neu* (Фитогермаб) получена в РОНЦ по оригинальной методике из растения *N. benthamiana* и охарактеризована как достаточно чистые и стабильные. Определение специфической противоопухолевой активности субстанции Фитогермаба на адекватной модели опухолевого роста в эксперименте была необходима для оценки перспективности доклинического изучения нового агента.

Цель исследования. Изучение субстанции Фитогермаба на перевиваемом раке молочной железы человека с гиперэкспрессией *Her2/neu* у иммунодефицитных мышей.

Материалы и методы. Использованы мыши-самки Balb/c nude 8 нед. 19 – 21 г. собственного разведения и аденокарцинома рака молочной железы человека SKBR3 (до $1,6 \times 10^6$ рецепторов *Her2/neu* на клетку) из Коллекции РОНЦ. Опухоль имплантировали п/к по 3 млн кл на мыш, лечение начинали при появлении пальпируемых узлов. Мышей с опухолями делили на 3 группы (n=10), одна получала Фитогермаб (Ф), другая – Герцептин (Г), а третья использована для контроля роста опухоли (КРО). Агенты растворяли в физ. растворе и вводили в/б 9-кратным курсом: 20 мг/кг, через 24 ч и затем каждые 48 ч по 10 мг/кг, суммарная доза 100 мг/кг. Опухоли измеряли и рассчитывали средние объемы (*V_{cp}*), по соотношению которых определяли стандартный показатель эффективности *T/C%* (*treatment/control*), минимальный критерий $T/C \leq 42\%$. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты. В обеих получивших лечение группах на протяжении всего периода наблюдения и в течение 1 сут после окончания курса опухоли были достоверно меньше, что видно из показателей $T/C=31-9\%$ или $T/C=32-15\%$ ($p < 0,05$). Статистически достоверных различий между группами Ф и Г не выявлено. Переносимость лечения была одинаково удовлетворительной без гибели мышей.

Заключение. Субстанция растительных рекомбинантных моноклональных антител против *Her2/neu* Фитогермаб, полученная из растения *N. benthamiana* при внутривенном введении мышам Balb/c nude с аденокарциномой молочной железы человека SKBR3 не проявляет побочных эффектов и равноэффективна Герцептину при применении суммарной дозы 100 мг/кг 9-кратным курсом.

Н.Ю. Анисимова¹, А.Н. Копылов¹, Ф.С. Сенатов², А.В. Максимкин², М.В. Киселевский¹
**МУЛЬТИПОТЕНТНЫЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТРОМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ
ДЛЯ СОЗДАНИЯ БИОИМПЛАНТОВ**

¹ФГБУ «РОИЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

²Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», Москва

Задачи исследования. Изготовление имплантов с помощью клеточных технологий, заселением матрикса клетками реципиента *in vitro*, может способствовать ускорению биоадаптации импланта в организме реципиента. Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК), на сегодняшний день, считаются одним из самых перспективных видов аутологичного материала для клеточной терапии и тканевой инженерии. ММСК могут быть выделены из различных тканей человека или животного. *in vitro* они могут дифференцироваться в фиброциты, кардиомиоциты, поперечнополосатые и гладкомышечные клетки, нервные (глиальные) клетки, остециты, хондроциты, теноциты, адипоциты. Целью настоящего исследования являлось выделение из костного мозга человека и животных ММСК и отработка методов, обеспечивающих их культивирование и пролиферацию.

Материалы и методы. Из костного мозга онкологических больных с солидными опухолями методом иммуномагнитной сепарации выделяли CD271+ клетки (Miltenyi Biotec). Суспензию выделенных клеток культивировали в среде MACS NH Expansion Medium (Miltenyi Biotec) в течение 5-14 суток при 37 °С и 5% CO₂. Уровень экспрессии на мембранах клеток CD271+ характеризовали методом проточной цитометрии BD Canto II. Анализ результатов проводили в программе Cytoflgic.

Результаты и выводы. В результате культивирования целевых клеток, выделенных из костного мозга, наблюдалось значительное увеличение их количества в культуре – в 9,1–16,3 раза. Уровень экспрессии CD271 в культуре соответствовал 59–77 %. По своим морфологическим особенностям ММСК, полученные по описанному дизайну, характеризовались как фибробластподобные, адгезирующие на пластике, а также на бесклеточном матриксе. Полученная культура ММСК может быть использована для получения индивидуализированного биосовместимого импланта, получаемого путем деиммунизации бесклеточного матрикса костно-хрящевого происхождения соответствующих конфигурации и размеров, с его последующей реколонизацией клетками реципиента. Для улучшения свойств имплантов была предложена технология модификации поверхности матрикса нанокompозитными биосовместимыми синтетическими покрытиями типа керамических пленок, что призвано обеспечивать клеточную адгезию к материалу матрикса и создавать условия для 2D и 3D колонизации матрикса для эпителизации и реваскуляризации трансплантата, а также снижения образования грануляций в области анастомоза

А.Н. Балаев, В.Н. Осипов, К.А. Охманович, В.Е. Федоров

**НОВЫЙ ЖИДКОФАЗНЫЙ МЕТОД СИНТЕЗА ТРИПТОРЕЛИНА –
СИНТЕТИЧЕСКОГО АНАЛОГА ГОНАДОТРОПИН-РЕЛИЗИНГ ГОРМОНА**

ЗАО "Фарм-Синтез", Москва

Задачи исследования. Разработка жидкофазного метода синтеза Трипторелина оптимизированного с учётом использования полупродуктов производства Буселерина, производимого на ЗАО "Фарм-Синтез".

Материалы и методы. Трипторелин – синтетический декапептид, является аналогом природного гонадотропин-релизинг гормона (гонадорелина), с более выраженным сродством к рецепторам и более стабильным по сравнению с природным гормоном. Трипторелин, в качестве противоопухолевого антигонадо-тропного средства, применяется для лечения гормонозависимой карциномы простаты у мужчин и для лечения эндометриоза у женщин. В настоящее время Трипторелин не производится на территории Российской Федерации, хотя входит в перечень ЖНВЛП. По своей структуре Трипторелин (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂) отличается от Буселерина (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-Ser(t-Bu)-Leu-Arg-Pro-NH₂) дополнительным концевым глицинамидным фрагментом и заменой защищённого D-серина на D-триптофан в середине молекулы. На ЗАО "Фарм-Синтез" был разработан оригинальный метод синтеза Буселерина, производимого в количестве полностью покрывающем потребность России. В целях расширения ассортимента отечественных препаратов было решено разработать новый жидкофазный метод синтеза Трипторелина основываясь на полупродуктах производства Буселерина, что позволит существенно упростить как сам процесс синтеза так и уменьшить его стоимость.

Результаты. Разработанный нами жидкофазный метод синтеза Трипторелина с использованием полупродуктов производства Буселерина: Вос-ProOH, Вос-Leu-ArgOH, Z-Ser-TyrOH и Pyr-His-TrpOH позволяет при параллельном производстве обоих продуктов существенно сократить число стадий синтеза и удешевить процесс производства. В данном способе не используются токсичные и дорогостоящие реагенты. Полный цикл производства сокращён до 3 недель. В настоящее время на ЗАО "Фарм-Синтез" производится наработка опытной партии Трипторелина для регистрации препарата.

Выводы. В результате проделанной работы разработан и внедряется в производство новый жидкофазный способ совместного синтеза Трипторелина на базе действующей схемы получения Буселерина. Предложенный способ отличается простотой и позволяет получать целевой декапептид с минимальными затратами.

И.И. Басиева¹, Л.З. Болиева¹, А.Р. Чочиева¹, И.Р. Просалкова², А.В. Сергеев²

ВЛИЯНИЕ ЛИКОПИНА НА ВОЗНИКНОВЕНИЕ ОПУХОЛЕЙ ПИЩЕВОДА, ИНДУЦИРОВАННЫХ У КРЫС N-МЕТИЛ-N-БЕНЗИЛНИТРОЗАМИНОМ

¹ГБОУ ВПО СОГМА Минздрава России, Владикавказ

²ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Поиск средств, способных эффективно предотвращать развитие злокачественных новообразований, интенсивно ведется с начала 60-х г.г. XX века. В ряде исследований показана значимая химиопрофилактическая активность каротиноида ликопина в отношении некоторых видов опухолей. Для решения вопроса о перспективах клинического применения ликопина в качестве средства профилактики рака необходимы дополнительные экспериментальные исследования на разных моделях канцерогенеза и доклиническое изучение механизмов химиопрофилактической активности.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния ликопина на возникновение опухолей пищевода, индуцированных у крыс N-метил-N-бензилнитрозамином (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 ликопин (БАД «Томатол», ЗАО «Биопрогресс», Россия) в дозе 30 мг/кг. Антиканцерогенную активность оценивали по изменению числа животных с новообразованиями пищевода и индекса множественности.

Результаты. В контрольной группе новообразования пищевода развились у 100% животных. Ликопин приводил к снижению частоты возникновения новообразований до 45,8%, индекса множественности в 2,4 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 ликопина по сравнению с животными контрольной группы.

Выводы. Результаты эксперимента свидетельствуют о наличии у ликопина химиопрофилактической активности в отношении канцерогенеза пищевода, индуцированного МБН. Полученные данные позволяют рекомендовать проведение дальнейших доклинических и клинических исследований с целью его дальнейшего внедрения в практику в качестве средства профилактики рака пищевода.

О.А. Безбородова¹, Ю.Б. Венедиктова¹, Е.Р. Немцова¹, Р.И. Якубовская¹, Л.Н. Александрова², А.Л. Коваленко²

ИЗУЧЕНИЕ РЕМАКСОЛА КАК ПРЕПАРАТА ПОДДЕРЖИВАЮЩЕЙ ТЕРАПИИ ПРИ ТРАДИЦИОННОЙ И ВЫСОКОДОЗНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

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

²ООО «НТФФ «ПОЛИСАН», Санкт-Петербург

Задача. Оценить влияние гепатопротекторного препарата ремаксол на эффективность и переносимость традиционной и высокодозной экспериментальной химиотерапии.

Материалы и методы. Мыши BDF₁ – интактные и с лимфолейкозом P388, привитым подкожно. Цитостатики – цисплатин (8,16 мг/кг), гемзар (120, 241 и 529 мг/кг) и ластет (25, 50 и 100мг/кг) – вводили в/в, однократно через 24 ч после перевивки опухоли. Ремаксол (ПОЛИСАН, Россия) вводили в/в в разовой дозе 50мл/кг в течение 5 дней (курсовая доза – 250 мл/кг). Аналогично вводили 0,9% раствор натрия хлорида или гептрал, использованные в качестве контроля. Оценка терапевтического действия ремаксола: по гибели животных, влиянию на функциональную активность печени и почек (по активности АЛТ, АСТ, концентрации мочевины и креатинина), ингибированию роста опухоли (ТРО, %), увеличению продолжительности жизни животных (УПЖ, %). **Результаты.** Ремаксол обладает выраженным детоксицирующим действием: гибель от токсичности ДДП не наблюдалась при сочетанном применении с ремаксолом (в контроле – 56±4 %), функциональная активность печени и почек оставалась близкой к нормальной (достоверное отличие от ДДП по биохимическим показателям). Сочетание ремаксола с гемзаром в традиционной дозировке в 1,5 раза замедляло рост опухоли (по ТРО) по сравнению с контролем (гемзар + гептрал), а при высокой дозе гемзара увеличивало продолжительность жизни животных до 80 % (УПЖ в группе «гемзар + гептрал» – 28 %). Сочетание ремаксола с ластетом в традиционной дозировке увеличивало продолжительность жизни животных по сравнению с одним цитостатиком на 10 % (сопоставимо с гептралом), а при высокой дозе ластета – до 30 % (УПЖ в группе «ластет + гептрал» – 14 %). **Заключение.** Препарат ремаксол обладает детоксицирующим действием и способствует увеличению эффективности экспериментальной химиотерапии с различными цитостатиками в традиционном и высокодозном режимах. Ремаксол может быть рекомендован для клинических испытаний в качестве препарата поддерживающей терапии у больных со злокачественными новообразованиями, получающих химиотерапию, в том числе, в высокодозных и интенсивных режимах.

О.А. Безбородова¹, Е.Р. Немцова¹, Т.А. Кармакова¹, Р.И. Якубовская¹, И.Л. Тутыхина², М.М. Шмаров², Д.Ю. Лозунов², Б.С. Народицкий²

РПАН-ЛФ – ПРЕПАРАТ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ ДЛЯ ДЕТОКСИКАЦИОННОЙ ТЕРАПИИ НА ОСНОВЕ ПСЕВДОАДЕНОВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ: ФАРМАКОДИНАМИКА И ФАРМАКОКИНЕТИКА

¹ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена Минздравсоцразвития РФ», Москва

²ФГБУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздравсоцразвития РФ, Москва

На основе псевдоаденовирусных частиц, экспрессирующих ген лактоферрина (Лф) человека, разработан отечественный препарат нового поколения РПАН-Лф (рекомбинантные псевдоаденовирусные наночастицы, несущие ген Лф человека), предназначенный для профилактики и купирования интоксикаций различной этиологии. В экспериментах *in vitro* показано, что РПАН-Лф продуцирует в культуре клеток 293 рекомбинантный Лф человека с молекулярной массой, равной $76,0 \pm 0,5$ kDa, с антигенными, антибактериальными и антиоксидантными свойствами, аналогичными таковым у природного Лф человека, выделенного из донорского женского молока (препарат «Лапрот»). В экспериментах *in vivo* на интактных мышах показано, что РПАН-Лф, при его однократном внутривенном введении, осуществляет доставку гена Лф в организм животного, обеспечивая высокий уровень экспрессии рекомбинантного белка в течение 30-ти суток. По данным иммуногистохимического исследования рекомбинантный Лф человека после введения РПАН-Лф, секретируется гепатоцитами и поступает в кровоток через систему венозных сосудов печени. При однократном введении РПАН-Лф в дозе $4,3 \times 10^{11}$ частиц/м² максимальная концентрация рекомбинантного Лф человека в крови животных поддерживается в течение 3-х дней, в отличие от нативного Лф человека в составе препарата «Лапрот», который элиминируется из организма в течение 3-х часов. Показатель времени полувыведения рекомбинантного Лф превышает таковое в 105 раз нативного Лф при введении препарата «Лапрот» и составляет 8,4 и 0,08 суток, соответственно, что характеризует значительную пролонгацию препарата в кровотоке. В экспериментах *in vivo* определена эффективность РПАН-Лф в качестве детоксицирующего агента, которая выражалась в снижении летальности, в значительном уменьшении степени выраженности и длительности клинических проявлений тяжелой экзогенной интоксикации, вызванных введением ксенобиотиков, а также в сохранении функциональной активности печени и почек по данным биохимического анализа крови.

Работа выполнена при финансовой поддержке ООО «НТФАРМА».

Ю.А. Бельый¹, А.В. Терещенко¹, А.В. Шацких¹, Д.К. Соловьев¹, Е.М. Евсигнеева²

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЙ ЛИЗИС ПРИ ЭНДОРЕЗЕКЦИИ ВНУТРИГЛАЗНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

¹Калужский филиал ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздравсоцразвития России, Калуга

²ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздравсоцразвития России, Москва

Цель исследования. Разработка новой комбинированной методики эндорезекции больших внутриглазных новообразований, локализующихся в заднем полюсе глаза, с применением интраокулярного электрохимического лизиса на этапе разрушения опухоли.

Материалы и методы. Эндорезекция с интраокулярным ЭХЛ была проведена у трех пациентов (3 глаза) с МХ большого размера $T_3N_0M_0$: проминенция – 8 – 10 мм, наибольший диаметр основания – от 13 до 15 мм, все новообразования локализовались юкстапапиллярно. ЭХЛ проводили на аппарате «ЕСУ-300» («Soring», Германия) с электрическим зарядом 20 – 25 Кл. После размещения экстрасклерального и интраокулярного электродов начинали сеанс ЭХЛ с силой тока 20 мА. По завершении процесса ЭХЛ извлекали электроды, витреотомом удаляли остатки деструктированной опухоли до обнажения склерального ложа по границе ранее проведенной круговой непрерывной лазеркоагуляции хориоидеи, проводили репликацию сетчатки и дополнительную эндолазеркоагуляцию, витреальную полость заполняли силиконовым маслом.

Результаты. Во всех трех случаях в ходе операции удалось удалить опухоль в полном объеме и получить анатомическое прилегание сетчатки. Целостность склеры была сохранена. В отдаленном послеоперационном периоде (от 1,5 до 3 лет) во всех случаях при осмотре глазного дна на месте удаленного внутриглазного новообразования определялась хирургическая колабома хориоидеи без признаков пигментации по всему склеральному ложу и периферии. Рецидивов и отдаленных метастазов ни в одном случае выявлено не было.

Заключение. Внедрение новых способов, направленных на разрушение опухолевой ткани, делает эндорезекцию перспективным органосохраняющим методом лечения МХ. Однако, учитывая небольшое количество случаев и непродолжительный срок наблюдения, необходимо дальнейшее проведение исследований с целью оценки эффективности эндорезекции.

Ю.В. Береснева¹, Ф.А. Ибрагимов¹, А.А. Батырбеков², Т.А. Петрова²

ВЛИЯНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО БЕЛКОВОГО ПРЕПАРАТА ИЗ СОИ НА ГУМОРАЛЬНОЕ ЗВЕНО ИММУНИТЕТА, НА ЦЕНТРАЛЬНЫЕ И ПЕРИФЕРИЧЕСКИЕ ОРГАНЫ ИММУНИТЕТА

¹*Институт биоорганической химии АН РУз, Ташкент*

²*Институт иммунологии АН РУз, Ташкент*

Группой ученых из Института биоорганической химии был получен белковый препарат из сои, показавший высокую биологическую активность в подавлении раковой опухоли при монотерапии более 60% на ряде экспериментальных опухолевых штаммах (АКАТОЛ, АКАТОН, Саркома 180, Меланома В-16).

Задачи исследования. Изучить влияние противоопухолевого белкового препарата из сои на гуморальное звено иммунитета, а также на центральные и периферические органы иммунитета.

Материалы и методы. В опыте использовали белых беспородных мышей массой 18–22 г. Животных иммунизировали эритроцитами барана (ЭБ) в дозе 2×10^7 /мышь. Через сутки им однократно внутривенно вводили препарат в дозе 150 мг/кг. В периферической крови иммунизированных мышей определяли титр антител к ЭБ в реакции гемагглютинации. Результаты выражали в логарифмах с основанием 2 (\log_2). В тимусе, костном мозге, брыжеечных лимфатических узлах подсчитывали общее количество клеток.

Результаты. На 4 сутки после иммунизации титр антител к ЭБ в контрольной группе составляет $3,3 \pm 0,2$. При введении мышам препарата титр антител к ЭБ по сравнению с предыдущей группой достоверно повышается в 1,27 раза ($4,2 \pm 0,2$). В контрольной группе в тимусе регистрируется $34,9 \pm 2,4 \times 10^6$ клеток. Введение мышам вещества способствует достоверному повышению уровня тимоцитов в 1,25 раза ($43,6 \pm 1,6 \times 10^6$). Показано, что препарат достоверно в 1,20 раза повышает число клеток костного мозга ($12,0 \pm 0,7 \times 10^6$ – контроль, $14,4 \pm 0,8 \times 10^6$ – опыт). В контрольной группе число клеток в лимфатических узлах составляет $23,9 \pm 1,2 \times 10^6$, а под воздействием препарата их уровень недостоверно повышается в 1,14 раза ($27,3 \pm 1,7 \times 10^6$).

Выводы. На основании полученных данных можно сделать заключение, что изученный препарат обладает способностью стимулировать первичный иммунный ответ к ЭБ, повышать титр антител к ЭБ в периферической крови, стимулировать пролиферацию клеток в тимусе, костном мозге и увеличивать общее количество клеток в периферических органах иммунитета.

Т.Н. Богатыренко¹, З.В. Куроптева², Л.М. Байдер², Т.А. Сошенкова¹, Н.П. Коновалова¹

ВЛИЯНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ЦИТОСТАТИКОВ И ИХ КОМПОЗИЦИЙ

¹*Институт Проблем химической физики РАН, Черноголовка*

²*Институт Биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва*

Задачи исследования. Изучить влияние аскорбиновой кислоты (АК) на химиотерапевтический эффект действия циклофосфана (ЦФ) и хемосенсибилизирующий эффект гидроксамовых кислот (ГК) и нитрата натрия.

Материалы и методы. Противоопухолевую активность изучали на лимфолейкозе мышей Р-388 линии BDF₁. Критерием эффективности лечения служило увеличение продолжительности жизни и число излеченных животных. Исследуемые соединения вводили внутривенно 7-кратно в дозе 40 мг/кг, сначала нитрат натрия, через 15 мин ГК (аспарагингидроксамовая и малеингидроксамовая кислоты). ЦФ в дозе 20 мг/кг вводили двукратно на 1-е и 6-е сутки после перевивки опухоли. АК в дозе 15 мг/кг вводили 7-кратно через 4 ч после введения всех препаратов.

Результаты. Ранее, методом ЭПР, нами было показано, что АК повышает эндогенное содержание оксида азота в организме через неспецифическую активацию иммунной системы, а именно запускает образование оксида азота лейкоцитами (Куроптева З.В. и др., 2000). Известно, что уровень оксида азота в организме влияет на плейотропность молекулы NO. В связи с этим, нам было интересно проверить влияние АК на химиотерапевтическое действие таких цитостатиков как ЦФ и цис Pt и отдельно на композиции их с ГК и донором оксида азота – нитратом натрия. В предыдущих работах нами была показана возможность повышения эффективности действия ЦФ с помощью хемосенсибилизации ГК и нитратом натрия, приводящая к ингибированию активности цитохрома Р-450 в первые часы после введения препаратов (Богатыренко Т.Н. и др., 2011). Продолжительность жизни животных при введении им через 4 часа аскорбиновой кислоты после лечения ЦФ и цис Pt увеличивалась на 30 – 40 %. Добавление аскорбиновой кислоты в той же концентрации к комбинации ЦФ с ГК и нитратом натрия не приводило к увеличению продолжительности жизни, но если в композиции уменьшали количество вводимого NaNO₃ (с 40 мг/кг до 15 мг/кг), то продолжительность жизни увеличивалась на 20 %.

Заключение. Таким образом, использование экзогенных и эндогенных соединений, увеличивающих концентрацию NO в организме животных, способно (в зависимости от концентрации) повышать эффективность действия противоопухолевых цитостатиков.

*Т.Г. Боровская, М.Е. Полуэктова, В.Е. Гольдберг, О.А. Румпель,
Ю.А. Шемерова, А.В. Вычужанина, О.А. Дель*

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ ТЕРАПИИ В КОРРЕКЦИИ ОТДАЛЕННЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ ТОКСИЧНОСТИ ПАКЛИТАКСЕЛА НА МУЖСКУЮ РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ

ФГБУ «НИИ фармакологии» СО РАМН, Томск

В настоящее время получены убедительные доказательства целесообразности использования антиоксидантов в онкологии. Это связано не только с тем, что их дефицит способствует прогрессированию самого опухолевого процесса, но и с тем, что оксидативный стресс является неспецифическим побочным эффектом цитостатической химиотерапии, который приводит к повреждению мембран и ДНК клеток нормальных тканей.

Цель исследования. Оценка фертильности крыс-самцов и степени выраженности генотоксичности в спермиях в отдаленные сроки после сочетанного введения цитостатического препарата паклитаксела и антиоксиданта тиофана, биологические эффекты последнего обусловлены синергическим сочетанием антирадикальной активности его фенольных фрагментов и противопероксидным действием его сульфидной группы.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на 30 крысах-самцах популяции Вистар, 20-ти из которых вводили однократно внутривенно в МПД паклитаксел (митотакс, "Dr.Reddy's", Индия). Половина крыс опытной группы получали тиофан в дозе 100 мг/кг за 5 дней до и 5 дней после цитостатического воздействия. Через 3 мес после начала эксперимента у всех животных определяли показатели спермограммы, способность к зачатию и генотоксичность в половых клетках, последняя оценивалась по уровню эмбриональной гибели у спаренных с ними крыс-самок.

Результаты. Установлено, что на фоне введения одного паклитаксела у 22 % крыс-самцов оказалась сниженной способность к зачатию, что сопровождалось уменьшением (в 1,8 раз) процента подвижных форм спермиев. Уровень эмбриональной гибели у крыс-самок, спаренных с самцами, получавшими паклитаксел, возростал в 1,6 – 3,4 раза. При сочетанном введении паклитаксела и тиофана эффективность спаривания, процент подвижных форм спермиев, показатели эмбриональной гибели достоверно превышали контрольные значения (паклитаксел) и не отличались от фоновых показателей.

Выводы. Введение антиоксидантного полифункционального препарата тиофан крысам-самцам, получавшим паклитаксел, способствовало сохранению их фертильности и снижению мутагенных эффектов цитостатического препарата в половых клетках.

*А.А. Борунова, Г.З. Чадау, Т.Н. Заботина, Н.Ю. Очеева, С.С. Соловьев,
И.Н. Михайлова, Л.В. Демидов, З.Г. Кадагидзе*

ИССЛЕДОВАНИЕ НАИВНЫХ CD28⁺CD11b⁻ КЛЕТОК В ПОПУЛЯЦИИ CD45⁺CD8⁺ Т-ЛИМФОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ДИССЕМИНИРОВАННОЙ МЕЛАНОМОЙ КОЖИ ПРИ ВАКЦИНОТЕРАПИИ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Задача исследования. Оценить прогностическую значимость изменений доли наивных CD28⁺CD11b⁻ клеток в популяции CD45⁺CD8⁺ 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, у остальных 9 больных (60 %) – в процессе вакцинотерапии наблюдалось прогрессирование основного заболевания. Иммунофенотип лимфоцитов периферической крови оценивали до начала лечения и в процессе вакцинотерапии в реакции иммунофлуоресценции с коммерческими МКА к CD45, CD8, CD28 и CD11b антигенам, конъюгированными FITC, PE, PE-Cy5 и APC, с последующим анализом на проточном цитофлуориметре FACS Calibur (BD Biosciences).

Результаты. Анализ субпопуляции CD45⁺CD8⁺CD28⁺CD11b⁻ Т-лимфоцитов показал, что у больных с прогрессирующим течением заболевания еще до начала вакцинотерапии доля наивных клеток в популяции CD45⁺CD8⁺ Т-лимфоцитов была в 2 раза меньше донорских показателей. На фоне терапии количество CD45⁺CD8⁺CD28⁺CD11b⁻ Т-лимфоцитов прогрессивно уменьшалось, и после 3-го введения вакцины было уже в 3 раза ниже нормы (15,4±7,6; p<0,05). В группе больных, находящихся в стабилизации субпопуляция CD45⁺CD8⁺ Т-клеток с фенотипом CD28⁺CD11b⁻ до начала лечения оставалась в пределах значений донорской группы (41,2±7,4), и в процессе вакцинотерапии наблюдалось снижение количества CD45⁺CD8⁺CD28⁺CD11b⁻ Т-лимфоцитов после 6-го введения вакцины (32,6±7,9).

Выводы. Таким образом, было выявлено, что низкое содержание наивных CD28⁺CD11b⁻ клеток в популяции CD45⁺CD8⁺ Т-лимфоцитов до начала лечения коррелирует с неблагоприятным клиническим течением заболевания на фоне проводимой вакцинотерапии.

О.А. Бочарова, В.А. Ильенко, Р.В. Карпова, Е.В. Бочаров, И.В. Казеев, А.Ю. Барышников
**ПОИСК ПУТЕЙ КОРРЕКЦИИ ЛЕЙКОЦИТАРНЫХ ИНТЕГРИНОВ
 И НЕКОТОРЫХ ЦИТОКИНОВ ПРИ СПОНТАННОМ ГЕПАТОКАНЦЕРОГЕНЕЗЕ У МЫШЕЙ**
 ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Задачи исследования. Исследовали экспрессию лейкоцитарных интегринов LFA-1 и Mac-1, а также сывороточный уровень интерлейкинов 6 (ИЛ-6) и 10 (ИЛ-10) в онтогенезе мышей, предрасположенных к спонтанному гепатоканцерогенезу, на фоне применения фитоадаптогена фитомикса-40 (ФМ-40) в профилактическом и лечебном режимах.

Материалы и методы. ФМ-40 – стандартизованный препарат, включающий компоненты 40 растительных экстрактов. В работе использовали 170 мышей линии СВА. 1 группа – контрольная; опытные группы: 2-я – мыши получали ФМ-40 *per os* с питьевой водой в течение первого месяца жизни, захватывая период завершения дифференцировки ткани печени (профилактический режим), 3-я – ФМ-40 применяли длительно, курсами, начиная с периода (6 мес) возникновения гепатокарцином (лечебный режим). Применяли соответствующие иммунологические методы исследования.

Результаты. В возрасте 4 и 8 месяцев во всех группах изучаемые параметры практически не различались. К 22 месяцам в 1 группе выявлено снижение экспрессии LFA-1 и Mac-1 до $35,4 \pm 1,6$ % и $7,8 \pm 1,0$ % соответственно ($p_{8-22} < 0,01$), а также повышение сывороточного уровня ИЛ-6 и ИЛ-10 до $139,1 \pm 6,6$ пг/мл и $60,9 \pm 3,9$ пг/мл соответственно ($p_{8-22} = 0,001$). Выявленные изменения могут способствовать недостаточному взаимодействию эффекторов иммунитета с клетками ткани-мишени и ускользанию опухоли от иммунологического надзора. Во 2 и 3 группах к 22 месяцам определено повышение экспрессии LFA-1 ($40,7 \pm 1,9$ % и $42,3 \pm 2,9$ % соответственно) и Mac-1 ($11,5 \pm 1,1$ % и $12,8 \pm 1,7$ % соответственно) в сравнении с контрольной группой ($p = 0,05$). Сывороточный уровень ИЛ-6 и ИЛ-10 во второй ($114,8 \pm 12,3$ и $46,8 \pm 5,3$ пг/мл) и третьей ($111,4 \pm 10,5$ и $45,1 \pm 5,6$ пг/мл) группах был ниже, чем в контроле ($p < 0,05$).

Выводы. Усиление экспрессии лейкоцитарных интегринов на лимфоцитах способствует образованию конъюгатов с опухолевыми клетками, что согласуется с подавлением ИЛ-6 и ИЛ-10. Последнее ослабляет образование противоопухолевых антител, блокирующих антигены опухолевых клеток и рецепторы эффекторов иммунитета, а также снижает ингибирование экспрессии адгезивных лигандов лейкоцитарных интегринов на клетках-мишенях. При этом может происходить миграция, накопление иммунных эффекторов и их контактирование с опухолевыми клетками в патологическом узле. Все эти процессы значимы для усиления противоопухолевого надзора при осуществлении киллинга опухолевых клеток эффекторами иммунитета.

*П.М. Бычковский¹, Т.Л. Юрkitович¹, 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 ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ПРЕПАРАТ
 ПРОЛОНГИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ
 ДЛЯ ЛОКАЛЬНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ
 ГОЛОВНОГО МОЗГА И ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВЫ И ШЕИ**

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

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

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

Задача исследования – создание пролонгированной формы цисплатина на основе окисленной целлюлозы – препарата «Цисплацел» и проведение клинических испытаний. Разработан способ получения лекарственного препарата «Цисплацел» (Патент РБ № 6420), заключающийся в иммобилизации цисплатина окисленной целлюлозой посредством ионообменного взаимодействия из водного раствора цитостатика с концентрацией, не превышающей $8 \cdot 10^{-3}$ моль/л. В условиях *in vitro* и *in vivo* было показано, что «Цисплацел» не обладает выраженным нейротоксическим действием на интактную ткань головного мозга и полностью сохраняет цитостатические свойства нативного цисплатина. Клинические испытания препарата «Цисплацел», проведенные на 65 пациентах с различными новообразованиями головы и шеи свидетельствуют о том, что в результате местного применения «Цисплацела» после не 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. В результате проведенных клинических испытаний в ГУ «РНПЦ неврологии и 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 свидетельствует о большей эффективности полученного препарата, в сравнении с нативным цисплатином. В настоящее время «Цисплацел» применяется в учреждениях здравоохранения Беларуси.

А.Ю. Вигоров, А.А. Меньшикова, Д.А. Груздев, Г.Л. Левит, В.П. Краснов

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ С(6)-ПРОИЗВОДНЫХ 2-АМИНОПУРИНА, СОДЕРЖАЩИХ В СВОЕЙ СТРУКТУРЕ АМИНОКИСЛОТНЫЙ ФРАГМЕНТ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ И ПРОТИВОВИРУСНЫХ АГЕНТОВ

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

В настоящее время большое внимание уделяется синтезу и исследованию аналогов нуклеозидов, среди которых найдены соединения, проявляющие противовирусную и противоопухолевую активность. Так, неларабин (2-амино-9-β-D-арабинофуранозил-6-метокси-9H-пурин) применяется для лечения острых лимфобластных лейкозов – самых распространенных лейкозов в детском и юношеском возрасте.

Задача исследования. Разработка метода синтеза аналогов пуринового фрагмента неларабина, а именно С(6)-производных 2-амино-9H-пурина, содержащих фрагменты аминокислот, присоединенных к атому С(6) остатка пурина через атом азота.

Материалы и методы. В качестве исходного соединения выбран коммерчески доступный 2-амино-6-хлорпурин. В предварительных экспериментах нами было установлено, что данное соединение в реакции с *трет*-бутиловым эфиром D-валина не дает целевого продукта нуклеофильного замещения хлора, поэтому была осуществлена предварительная защита аминогруппы путем ацетилирования. Показано, что использование в качестве N-нуклеофилов метиловых эфиров аминокислот (на примере метилового эфира L-фенилаланина) сопровождается образованием дикетопиперазина, поэтому были использованы *трет*-бутиловые эфиры аминокислот. Взаимодействие 2-ацетида-6-хлорпурина с *трет*-бутиловыми эфирами D-валина, глицина, L-аланина, L-фенилаланина и L-пролина при нагревании в диметилацетамиде в присутствии триэтиламина при 100 °С в течение 12 ч приводило к соответствующим *трет*-бутиловым эфирам N-(2-ацетида-9H-пурин-6-ил)аминокислот. Последующий щелочной гидролиз действием 1 М NaOH при нагревании приводил к удалению C- и N-защитных групп.

Результаты и выводы. Разработаны методы синтеза и впервые получены N-(2-амино-9H-пурин-6-ил)аминокислоты – новые С(6)-производные 2-аминопурина, которые далее предполагается использовать для синтеза аналогов противоопухолевого препарата неларабин.

Работа выполнена при финансовой поддержке УрО РАН (проект 12-П-3-1030), а также в рамках Государственной программы поддержки ведущих научных школ (грант НШ 5505.2012.3).

Е.В. Возняковская, И.Д. Трещалин, Д.А. Бодягин, Л.Н. Лысенкова, М.Н. Преображенская, Э.Р. Переверзева

ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ И ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ АЗИДООЛИГОМИЦИНА – НОВОГО ПОЛУСИНТЕТИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДНОГО МАКРОЛИДНОГО АНТИБИОТИКА ОЛИГОМИЦИНА А

ФГБУ «НИИНА» РАМН, Москва

Задачи исследования. В настоящее время наиболее эффективным направлением поиска новых подходов к химиотерапии онкологических заболеваний признано блокирование мишеней, жизненно важных для опухолевых клеток. В ФГБУ «НИИНА» РАМН было синтезировано новое соединение азидоолигомицин, мишенью которого является F₀F₁ АТФсинтаза митохондрий. Задачей настоящего исследования явилось изучение его острой токсичности и противоопухолевой активности *in vivo*.

Материалы и методы. опыты проведены на мышах В₆D₂F₁ самцах массой тела 20 – 22 грамма. При изучении острой токсичности по методу Литчфилда и Уилкоксона соединение в виде 10% раствора (растворитель 0,9% р-р хлорида натрия, содержащий 4,5% TWEEN 80) вводили внутривенно в различных дозах. Дозы, характеризующие токсичность рассчитывали при помощи компьютерной программы «StatPlus 2006». Лимфолейкоз Р388 перевивали внутрибрюшинно по 1 млн клеток на мыш. Меланому В -16 перевивали под кожу бока по 1 млн клеток на мыш. Препарат вводили мышам однократно внутривенно в дозах 0,25 и 0,5 мг/кг или внутрибрюшинно пятикратно ежедневно в дозах 0,1 и 0,2 мг/кг. Противоопухолевый эффект оценивали по увеличению продолжительности жизни животных (УПЖ%) или по торможению роста опухоли (ТРО%).

Результаты. Расчетные дозы соединения, характеризующие токсичность, составили: ЛД₅₀ = 1,39 (1,0÷1,79) мг/кг; МПД = 0,68 (0,62÷0,75) мг/кг. Показано, что соединение, примененное внутривенно однократно в дозах 0,25 и 0,5 мг/кг, вызывает достоверное увеличение продолжительности жизни животных с лимфолейкозом Р388 (УПЖ = 31%). При ежедневном пятикратном применении соединения в разовых дозах 0,1 и 0,2 мг/кг УПЖ составило соответственно 35% и 67%. Достоверное торможение роста меланомы мышей В-16 было получено при введении соединения в дозе 0,1 мг/кг пятикратно с интервалом 24 ч. ТРО составляло от 54 до 66%.

Выводы. Азидоолигомицин обладает противоопухолевой активностью в отношении как асцитной, так и солидной опухолей. Выявленная противоопухолевая активность позволяет передать препарат на дальнейшие этапы предклинического изучения.

С.В. Гамаюнов, Р.Р. Калугина, Н.М. Шахова, Е.В. Гребенкина, А.Н. Денисенко, В.А. Каров

АНАЛИЗ ПРЕДИКТОРОВ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ РАКА КОЖИ
ГБУЗ Нижегородский областной онкологический диспансер, Нижний Новгород

Задачи исследования. Изучить предикторы рецидива рака кожи после проведения фотодинамической терапии.

Материалы и методы. Проанализированы результаты лечения 82 пациентов с морфологически верифицированным раком кожи. Первичный рак кожи составил 73% (60/82 случаев), рецидивный - 27% (22/82 случаев), базально-клеточный рак кожи диагностирован в 87% (71/82 случаев), плоскоклеточный рак кожи в 13% (11/82 случаев). В качестве фотосенсибилизатора использовались препараты фотодитазин, производства фирмы «ВЕТА-ГРАНТ» и радахлорин, производства фирмы «Stada-нижфарм» в стандартных дозах. Лазерное облучение выполнялось на лазерах с длиной волны 662 нм. Доза лазерного облучения составила в среднем 250 Дж/см² (от 100 до 400 Дж/см²).

Результаты. Полный ответ после одного сеанса ФДТ отмечен у 81,6% (67/82 случаев) пациентов. Частичный ответ зарегистрирован у 14,5% (12/82 случаев) больных. Стабилизация у 2,6% (2/82 случаев), прогрессирование у 1,3% (1/82 случаев). При базально-клеточном раке кожи полный и частичный ответ достигнут в 98,4% (71/72 случаев), а при плоскоклеточном лишь в 80% (9/11 случаев). В сроки наблюдения от 2 до 48 месяцев рецидив возник у 15% (12/82 случаев) пациентов. При анализе причин возникновения рецидива установлено: у 6 пациентов отмечено продолжение роста по периферии очага, что вероятно связано с неадекватным определением размеров поля облучения, у 6 пациентов отмечено продолжение роста в центре поля после попытки терапии крупных (> 5мм) очагов, что, возможно, связано с неадекватным выбором дозы. Анализ частоты рецидива в зависимости от характеристики опухоли выявил, что после ФДТ первичного рака кожи рецидив возник в 13% (8/60 случаев), а после ФДТ рецидивного рака в 20,3% (5/22 случаев).

Выводы. 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 обсудение обоснованности увеличения дозы облучения и раннего применения комбинированных методов лечения: ФДТ и операция или ФДТ и ЛТ.

Л.Х. Гаркави, Г.В. Жукова, П.Г. Сакун, С.В. Григоров, О.Ф. Евстратова

СИСТЕМНЫЕ ЭФФЕКТЫ ПРИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОМ ДЕЙСТВИИ ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ ДОЗ ЛИКВОРА БОЛЬНЫХ С УДАЛЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ ЦНС В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

ФГУ РНИОИ Минздрава России, Ростов-на-Дону

В экспериментах на белых беспородных крысах с перевивной саркомой 45 изучали эффекты гомеопатического средства, полученного путем разведения ликвора пациентов с удаленными опухолями ЦНС в 10⁷ (гомеопатическое разведение 2С). Ликвор получали при проведении лечебных и диагностических процедур и разводили непосредственно перед введением животным внутривенно в дозе 0,3 – 0,4 мл. Введение гомеопатических доз ликвора проводили 2 раза в неделю в течение 3 недель. Изучали изменения в ткани опухоли, центральном и периферических звеньях иммунной системы, динамику характера и напряженности общих неспецифических адаптационных реакций организма (Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А., 1990). Опосредованный противоопухолевый эффект был получен не менее чем в 50% случаев (максимально, у 7 из 8 животных в группе). Он выражался в торможении роста опухоли в среднем на 72%, а также в регрессии опухоли (более чем у трети животных в отдельных экспериментах). В ткани опухоли отмечены некротические и дегенеративно-дистрофические изменения. В случаях полной регрессии опухолей наблюдалось замещение ткани саркомы 45 соединительной тканью. Противоопухолевый эффект сопровождался резким усилением инфильтрации ткани саркомы 45 клетками иммунной системы. При этом наблюдалось значительное повышение лимфопрлиферативной активности в органах иммунной системы, а также признаки активизации межклеточных взаимодействий с участием тимоцитов, тканевых базофилов, макрофагов и спленоцитов. Эти изменения были во многом сходны со структурно-функциональными сдвигами в центральном и периферических звеньях иммунной системы при торможении и регрессии экспериментальных опухолей под влиянием активационной электромагнитотерапии с использованием слабых электромагнитных излучений различных частотных диапазонов (Гаркави Л.Х. и соавт., 1990, 2002; Шихлярова А.И., 2001; Жукова Г.В. и соавт., 2005, 2010). В то же время, в отличие от эффектов указанных электромагнитных воздействий, в случаях эффективной гетероликворотерапии не было выявлено изменений активности ферментов-дегидрогеназ СДГ и α-ГФДГ в лимфоцитах периферической крови животных по сравнению с этими показателями у крыс с прогрессивным ростом опухоли. При использовании неразведенного ликвора противоопухолевого эффекта отмечено не было.

Л.Х. Гаркави, Г.В. Жукова, О.Ф. Евстратова, Т.А. Бартенева, А. И. Михолап, М.И. Брагина, Е.А. Ширнина
**ЛОКАЛЬНЫЕ И СИСТЕМНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНИЗМЕ
ПРИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЭФФЕКТАХ НАНОЧАСТИЦ-ФЕРРИМАГНЕТИКОВ
В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

ФГУ РНИОИ Минздравсоцразвития РФ, Ростов-на-Дону

Ранее была показана возможность получения выраженных противоопухолевых эффектов (вплоть до полной регрессии опухоли) у крыс с перевивной саркомой 45 с помощью наночастиц магнетита (магнитной жидкости на водной основе, АМ-01), вводимых в зону, окружающую опухоль (Гаркави Л.Х., Жукова Г.В. и соавт., 2010, 2011). Необходимо было подтвердить полученный эффект на другом виде опухоли, с иными кинетическими характеристиками. С этой целью было проведено 2 серии экспериментов на 70 белых беспородных крысах-самцах с перевивной лимфосаркомой Плисса (штамм получен в банке клеточных линий тканей людей и животных Института экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого, г. Киев, Украина). В разных сериях экспериментов противоопухолевый эффект был отмечен в 15 – 30% случаев. Он выражался в полной регрессии опухоли, случаев торможения роста опухоли отмечено не было. При этом в подавляющем большинстве случаев размеры опухолей до начала регрессии были весьма велики – 15 см³ и более. При гистологическом исследовании тканей с места локализации опухоли отмечали замещение ткани опухоли соединительной тканью, обильно инфильтрированной клетками иммунной системы. В ряде случаев среди фибробластов наблюдали небольшие группы клеток опухоли с признаками выраженных дегенеративно-дистрофических изменений. Аналогично отмеченному для случаев регрессии саркомы 45, при регрессии лимфосаркомы Плисса показатели лейкоцитарной формулы крови и структурно-функциональные изменения в органах иммунной системы соответствовали антистрессорным адаптационным реакциям спокойной и повышенной активации (Гаркави Л.Х., Уколова М.А., Квакина Е.Б., 1975; Гаркави Л.Х., 1969, 2006). Полученные результаты свидетельствуют об эффективности наночасти магнетита как фактора противоопухолевой терапии и необходимости углубленных исследований механизмов их повреждающего действия на опухоль.

*Е.В. Гребёнкина, С.В. Гамаюнов, О.В. Оноприенко, Н.А. Илларионова,
А.Н. Денисенко, Р.Р. Калугина, О.В. Качалина, Н.М. Шахова*

ФДТ ЗАБОЛЕВАНИЙ ВУЛЬВЫ

Нижегородский областной онкологический диспансер, Нижний Новгород

Проблема лечения фоновых и предраковых заболеваний вульвы сохраняет свою актуальность в связи с недостаточной эффективностью существующих методов лечения, длительностью заболевания и тяжестью течения. Целью данного исследования является оценка эффективности фотодинамической терапии (ФДТ) фоновых и предраковых заболеваний вульвы. На базе Нижегородского областного онкологического диспансера использование ФДТ для лечения фоновых и предраковых заболеваний вульвы начато в 2011 г. Пролечено 16 пациенток: склеротический лишай вульвы – 5, плоскоклеточная гиперплазия вульвы – 2, лейкоплакия вульвы – 7, дисплазия вульвы 3 ст – 2. В анамнезе у всех пациенток длительный период лечения патологии вульвы с использованием всех существующих методов, в т.ч. у 3-х пациенток – хирургической операции вульвэктомии. ФДТ была проведена с использованием фотосенсибилизатора (ФС) хлоринового ряда в стандартной дозе, препарат вводился внутривенно на 200 мл физиологического раствора в течение 30 мин. Лазерное облучение проводилось под общим обезболиванием (наркоз, спинальная анестезия) через 1,5–2 ч после введения установкой «Лакха-Милон» с полупроводниковым лазером с длиной волны 662 нм. Лазерное облучение проводилось дистанционно, с применением моноволоконных кварцевых световодов с микролинзой на рабочей части для доставки света на все видимые зоны патологического процесса (Е-150-200 Дж/см², Рs-0,7–1 Вт/см²) и окружающие ткани (Е-70-100 Дж/см², Рs-0,5-0,7 Вт/см²). В качестве методов оценки результатов – клиническое наблюдение, вульвоскопия, цитологические и морфологические (биоптат) данные. Необходимо отметить наличие выраженного болевого синдрома процедуры ФДТ области вульвы, что потребовало адекватного обезболивания. Патоморфоз области вульвы первые 2 сут сопровождался гиперемией и отеком с развитием изъязвления на 3–5 сут. Эпителлизация начиналась на 7–10 сут, завершалась через 3–4 нед. В результате проведенного лечения клинически и морфологически (биоптат) получена полная регрессия патологических процессов вульвы у всех пациенток. За время наблюдения не было ни одного рецидива заболевания. Первый опыт показал оправданность использования эффективного обезболивания процедуры ФДТ при данной локализации патологического процесса. ФДТ на сегодняшний день, являясь радикальным, но в то же время бережным, является методом выбора при лечении фоновых и предраковых заболеваний вульвы.

Е.Ю. Григорьева¹, А.В. Кодюков², А.С. Кауфман³

НОВОЕ ПОКОЛЕНИЕ СРЕДСТВ ДЛЯ РАДИОИММУНОХИМИЧЕСКОГО МИКРОАНАЛИЗА

¹ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

²ЗАО «Нуклидбиомед», Москва

³ООО «ВИТАКО», Москва

С помощью радиоиммунохимического микроанализа (РИА) сегодня реализуется количественное определение более 450 аналитов различной природы в биопробах. Среди многочисленных альтернативных методов анализа РИА продолжает оставаться наиболее надежным и экономически выгодным. Так, например, в одном из диагностических центров г. Москвы (КДЦ №4), обслуживающем 2,9 млн. человек и получающим биоматериал от 81 учреждения здравоохранения в 2011 г. определяли РИА 50 аналитов, выполнили 830 тысяч исследований у 138 тысяч пациентов. Новое поколение средств для РИА представлено инновационными решениями: диагностическими наборами реагентов «НУКЛИДБИОМЕД» и установкой «АРИАН». Диагностические наборы реагентов «НУКЛИДБИОМЕД» реализуют, как радиоиммунологический, так и иммунорадиометрический методы анализа с использованием метки йод-125. Выпускаются в стриповом и в пробирочном формате. Доступны для определения 16 аналитов, наиболее востребованных медицинской практикой, включая онкомаркеры ПСА, СА-125, СА-19-9, СА-19-3. При создании этих реагентов решались научно-технические и технологические вопросы: модификации поверхности носителя связывающей системы с целью придания ей высокой и контролируемой связывающей способности; управляемой иммобилизации связывающей системы, обеспечивающей получение мономолекулярного слоя с требуемой пространственной ориентацией паратопов/эпитопов при отсутствии их экранирования. Все реагенты, зарегистрированы и внедрены в медицинскую практику. Установка «АРИАН» работает с любыми диагностическими наборами реагентов с меткой йод-125 пробирочного, стрипового форматов, скрайбируемыми биочипами, обеспечивает чувствительность по йоду-125 не более $6,2 \times 10^{-18}$ моль/проба, компенсацию позиционной ошибки и производительность до 1000 анализов в час. Установка служит основой комплектования современных РИА лабораторий в практическом здравоохранении, а также находит широкое применение в лабораториях научно-исследовательских и производственных организаций медико-биологической направленности.

М.А. Грин¹, Е.А. Плотникова², А.Д. Плютинская², Р.И. Якубовская², А.Ф. Миронов¹

РОЛЬ УГЛЕВОДНЫХ ЛИГАНДОВ В СЕЛЕКТИВНОСТИ НАКОПЛЕНИЯ ХЛОРИНОВЫХ И БАКТЕРИОХЛОРИНОВЫХ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ В ОПУХОЛЯХ

¹Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва

²ФГБУ «МНИОИ им. П.А.Герцена» Минздрава России, Москва

В настоящее время применяются в клинике или находятся на разных стадиях клинических испытаний фотосенсибилизаторы (ФС) различных классов. Среди них особый интерес представляют природные хлорофиллы и их производные с интенсивным поглощением в красной и ближней ИК-области спектра, поскольку их терапевтическое окно поглощения (660 – 800 нм) открывает новые возможности для диагностики и лечения злокачественных новообразований. Однако сами хлорофиллы и бактериохлорофиллы имеют ограниченное применение в качестве ФС из-за высокой гидрофобности, низкой химической и фотостабильности, умеренной селективности накопления в раковых клетках. Туморотропность ныне используемых ФС невелика и реализует лишь 2–3-кратное повышение концентрации пигмента в опухолевой ткани по сравнению со здоровой. Это приводит к побочным эффектам фотодинамической терапии, включающим фотоповреждение здоровых тканей, окружающих опухоль. Одним из возможных путей решения этой задачи является конъюгация молекулы ФС с лигандами, для которых имеются специфические рецепторы на поверхности опухолевых клеток. Например, показано, что углеводные заместители не только увеличивают растворимость хлорофилов в воде, но и обеспечивают векторную доставку ФС внутрь клетки посредством рецептор-опосредованного эндоцитоза. В настоящей работе предложены методы синтеза конъюгатов природных хлорофилов с углеводами, базирующиеся на современных реакциях органической химии. Получены модификационные ряды гликозилированных хлорофилов и бактериохлорофилов, содержащих остатки лактозы и галактозы в различных положениях макроцикла. Сравнительное исследование, выполненное на различных культурах клеток опухолей человека, показало, что положение углеводных заместителей в макроцикле, их количество, а также тип сахара значительным образом влияют на активность ФС и их накопление в клетках. Наиболее высокая фотоиндуцированная активность выявлена у гликоконъюгатов с остатком углевода в пиррольном кольце А. Увеличение количества углеводных фрагментов, а также присоединение их по «нижней» части макроцикла значительно снижает фотоактивность красителей.

Н. Гуррам¹, Д.В. Новиков¹, Е.С. Плеханова¹, А.В. Калугин¹, А.В. Алясова², В.В. Новиков¹, А.Ю. Барышников³
**СРАВНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА RAGE И ДРУГИХ РАКОВО-ТЕСТИКУЛЯРНЫХ ГЕНОВ
В КРОВИ И В ОПУХОЛЕВЫХ ОЧАГАХ БОЛЬНЫХ РАКОМ ПОЧКИ**

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

²Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород

³ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Задачи исследования. Разработка методов мониторинга и способов ранней диагностики рака почки является актуальной задачей. Среди опухоли-ассоциированных генов выделяют группу раковотестикулярных (РТ) генов, которые обнаруживаются в опухолевых клетках различного происхождения в различных комбинациях и имеют прогностический потенциал. Среди них находится ген RAGE (renal antigen). В данной работе проведено сравнение частоты обнаружения мРНК RAGE и 21 РТ генов в крови и опухолевых очагах больных раком почки.

Материалы и методы. В работе использовали 27 образцов опухолевых очагов и 37 образцов периферической крови от больных раком почки. Образцы исследовали на присутствие мРНК генов RAGE, MAGE A(1-6), XAGE1, SSX1,2,4, MAGEC1, NY-ESO-1 и GAGE1-9 методом обратной транскрипции – полимеразной цепной реакции. Результаты оценивали методом электрофореза нуклеиновых кислот.

Результаты и выводы. В образцах опухолевых очагов мРНК гена RAGE была обнаружена в 26 образцах (96%). Матричная РНК SSX1,2,4 была обнаружена в 4 образцах (15%), XAGE1 в 6 (22%), NY-ESO-1 в 5 (19%), MAGEC1 в 11 (41%), GAGE1-9 в 13 (48%) и MAGE A(1-6) в 16 (59%). В образцах периферической крови мРНК RAGE гена была выявлена в 31 образцах (84%). Матричная РНК SSX1,2,4 была обнаружена в 3 образцах (8%), XAGE1 в 12 (32%), NY-ESO-1 в 3 (8%), MAGEC1 в 10 (27%), GAGE1-9 в 13 (35%) и MAGE A(1-6) в 9 (25%). Таким образом, частота встречаемости мРНК гена RAGE в крови и опухолевых очагах больных раком почки намного выше, чем частота встречаемости мРНК других тестированных раковотестикулярных генов.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы и ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России» на 2007-2012 годы.

Д.В. Демидов, Хани Кузма, Е.В. Кольшикина, Н.А. Плотникова, С.П. Кемайкин

**ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА И МЕТФОРМИНА
НА ДИНАМИКУ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

ФГБОУ ВПО «Мордовский госуниверситет им. Н.П. Огарева», Саранск

Онкостатические препараты обладают различным механизмом действия и сопоставление данных об их влиянии на развитие неоплазий и на показатели перекисного окисления липидов являются актуальным направлением экспериментальной онкологии.

Задачи исследования. Оценить динамику некоторых показателей перекисного окисления липидов в сыворотке крови мышей в условиях индуцированного опухолевого роста кожи и при коррекции мелатонином и метформинном.

Материалы и методы. Эксперимент проведен на 200 самках нелинейных белых мышей которые были поделены на три группы по 50 мышей, оставшиеся 50 мышей (4-я группа) служили интактным контролем. Моделировали индуцированный бенз(а)пиреном опухолевый рост кожи (папилломы и плоскоклеточный рак), с коррекцией в экспериментальных группах мелатонином и метформинном.

Результаты. В группе животных при коррекции мелатонином содержание МДА в сыворотке крови достоверно снизилось в 2,6 раза ($p < 0,05$) по сравнению с интактными животными (4,05 ммоль/л и 1,53 ммоль/л) и в 5,5 раз ($p < 0,001$) по сравнению с группой контроля по канцерогенезу (8,42 ммоль/л и 1,53 ммоль/л). Уровень Fe-МДА в сыворотке крови уменьшился в 1,6 раза (3,9 ммоль/л и 2,47 ммоль/л) по сравнению с интактными животными и в 3,1 раз по сравнению с группой контрольных мышей (7,6 ммоль/л и 2,47 ммоль/л). При применении метформина у мышей по сравнению с контрольной группой отмечается достоверное снижение показателей МДА в 4,9 раза ($p < 0,001$) в сыворотке крови (8,42 ммоль/л и 1,72 ммоль/л). Использование метформина привело к снижению уровня Fe-МДА в сыворотке крови в 1,25 раза относительно интактных животных ($p < 0,01$) (3,9 ммоль/л и 3,12 ммоль/л) и в 2,4 раза ($p < 0,01$) по сравнению с группой контроля по канцерогенезу (7,6 ммоль/л и 3,12 ммоль/л). Совместное применение метформина и мелатонина привело к достоверному снижению уровня МДА в сыворотке крови в 3,5 раза ($p < 0,001$) по сравнению с группой контроля (8,42 ммоль/л и 2,4 ммоль/л).

Выводы. Мелатонин и метформин при индуцированных неоплазиях кожи ограничивают интенсивность процессов перекисного окисления липидов и восстанавливают собственный антиоксидантный потенциал в сыворотке крови.

А.М. Дёмин¹, С.Е. Пиксин¹, М.А. Уймин², И.В. Бызов², А.Е. Ермаков², В.П. Краснов¹

СИНТЕЗ НАНОКОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ Fe₃O₄, МОДИФИЦИРОВАННЫХ RGD-ПЕПТИДОМ

¹*Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, Екатеринбург*

²*Институт физики металлов УрО РАН, Екатеринбург*

Задачи исследования. Целью работы является разработка методов ковалентной иммобилизации RGD-пептида на нанокристаллические порошки Fe₃O₄, полученные газофазным методом синтеза. Материалы и методы. Наночастицы Fe₃O₄ (20 – 40 нм) получены методом газофазного синтеза в ИФМ УрО РАН. Иммобилизация производных RGD-пептида на магнитные наночастицы подтверждена данными элементного анализа и ИК-спектроскопии при использовании инфракрасного Фурье-спектрометра «Nicolet 6700».

Результаты и выводы. Разработаны методы получения производных RGD пептида, основанные на последовательной конденсации селективно защищённых аминокислот L-Asp, Gly, и L-Arg. Полученные производные RGD-пептида N ω -Pbf-L-Arg-Gly-L-Asp(OMe)₂ и N ω -Pbf-L-Arg-Gly-L-Asp(OtBu)₂ содержат линкер (глутаровая кислота), который позволил в дальнейшем провести конденсацию с аминогруппой 3-аминосилан-модифицированных магнитных наночастиц на основе Fe₃O₄. Разработаны методы качественной и количественной оценки степени иммобилизации аминокислот на поверхности наночастиц Fe₃O₄, основанные на данных ИК-спектроскопии и элементного анализа. Найденные условия удаления защитных групп и получения МНЧ, содержащих производные RGD-пептида со свободными функциональными группами L-Arg и L-Asp, что необходимо для сохранения специфичности пептида в отношении поверхностных рецепторов (интегринов $\alpha\beta_3$) раковых клеток, с которыми в дальнейшем должны будут связываться RGD-модифицированные МНЧ. Проведена оценка структурных характеристик полученных наночастиц и изучены их магнитные свойства. Показано, что существенных изменений в морфологии частиц в процессе модификаций не происходит. Полученные наноконкомпозиты обладают достаточно высокими магнитными свойствами (сравнимыми со свойствами исходных МНЧ), что, как мы полагаем, позволит в дальнейшем получить оригинальные магнитно-контрастные препараты для диагностики рака методом МРТ.

Работа выполнена при финансовой поддержке УрО РАН (проект 12-П-234-2003, 12-П-3-1030), а также в рамках Государственной программы поддержки ведущих научных школ (грант НШ 5505.2012.3), и грантом РФФИ Урал №10-03-96003-р урал а

В.А. Деревкова¹, И.В. Балалаева², И.И. Маслова², А.Г. Корепин¹, Н.М. Глушак¹, А.А. Терентьев¹

ОСОБЕННОСТИ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ РЯДА ПРОИЗВОДНЫХ ТРИАЗОЛОВ И ОКСАЗОЛИДИНОНА

¹*Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка*

²*Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород*

Производные триазолов и оксазолидинонов широко применяются для создания биологически активных соединений, которые проявляют противогрибковые, противовирусные, противомикробные и противоопухолевые свойства.

Задачей настоящего исследования являлось изучение потенциальных противоопухолевых свойств соединений, содержащих в своей структуре производные триазола и оксазолидинона, объединенные с морфолином или пиперидином линкерными группировками различной структуры. Исследование проводилось на опухолевых клетках линий HeLa, MCF7 и H1299.

Из 20 исследованных производных триазола и оксазолидинона цитотоксические свойства проявили 4 соединения. В структуре всех цитотоксичных соединений одна из группировок представляет собой производное оксазолидинона или триазола, а вторая – морфолиновую или пиперидиновую группировку. Две гетероциклические группировки объединены в одной молекуле линкерным фрагментом N-CH₂-N, где N – эндоциклические атомы азота разных гетероциклов. По данным МТТ-окрашивания, клетки разных линий существенно различаются по чувствительности к исследуемым соединениям, наибольшая чувствительность показана для клеток HeLa, наименьшая – для клеток MCF7.

По результатам проточной цитофлуориметрии, цитотоксичные соединения в дозах IC₅₀ слабо влияют на клеточный цикл, при этом не наблюдается накопления погибших клеток. Кроме того, цитотоксичные производные не приводят к деградации PARP, что говорит о неспособности этих соединений вызывать апоптотическую гибель клеток в использованных дозах. Предполагается, что возможным механизмом цитотоксического действия исследованных производных триазолов и оксазолидинона является их влияние на энергетический метаболизм клеток, что проявляется в снижении интенсивности МТТ-окрашивания без индукции клеточной гибели. В клетках MCF7 цитотоксичные соединения вызывают существенное накопление белка p53, однако природа этого явления в настоящее время неизвестна и требует дальнейшего изучения.

С.В. Дидук, К.В. Смирнова

ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ОНКОГЕНА LMP1 ВИРУСА ЭПШТЕЙНА-БАРР

ФГБУ «РОИЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ) – убиквитарный герпесвирус человека, который ассоциирован с широким спектром доброкачественных и злокачественных новообразований разного этиогенеза. Среди белков латентного цикла инфекции ВЭБ особое внимание привлекает интегральный мембранный белок LMP1, который обладает важным трансформирующим потенциалом. Несмотря на активное изучение LMP1, механизм влияния его отдельных мутаций на регуляцию онкогенной активности этого белка по-прежнему остается до конца не изученным. Отдельные точечные мутации влияют и на экспрессию укороченной неонкогенной, так называемой литической формы белка – lyLMP1.

Цель исследования. Определение роли мутаций (G212S, T350A и S366T), часто выявляемых в STAR-областях lyLMP1, в его способности влиять на активность ключевых сигнальных путей клетки NF-κB и AP-1, вариантами онкогена LMP1 ВЭБ.

Материалы и методы. В работе использовались следующие векторные конструкции: pSG5-LMP1-Cao и pSG5-LMP1-B95-8, pSG5-lyLMP1, а также pSG5-LMP1-Triple и pSG5-lyLMP1-Triple. Для анализа активации транскрипционного фактора NF-κB использовали репортерную плазмиду pκB-ConA-Luc, для определения уровня активации JNK сигнального пути использовали *jun2*-люциферазную репортерную плазмиду (pAP1-Luc).

Результаты. В результате проведения серии экспериментов показано, что экспрессия мутантного варианта lyLMP1-Triple во всех случаях снижает уровень транскрипционного фактора NF-κB, активированного полноразмерным онкогеном LMP1 ВЭБ, в среднем на 18,4 % ($p \leq 0,05$). Ко-трансфекция lyLMP1 с различными вариантами онкогена LMP1 (B95-8, Triple и Cao) во всех случаях вызывала ингибирование NF-κB. Максимальное ингибирование NF-κB выявлено в случае ко-экспрессии lyLMP1-Triple и LMP1-B95-8 (23,2%, $p \leq 0,001$). Кроме того, показано, что вариант lyLMP1-Triple снижает уровень транскрипционного фактора AP-1, активированного онкогеном LMP1, в среднем на 14,6% ($p \leq 0,05$). Аналогично выше представленным результатам, экспрессия lyLMP1-Triple вызывала большее ингибирование AP-1, по сравнению с контрольным вариантом lyLMP1.

Выводы. Дальнейшее выяснение роли часто встречающихся мутаций в механизме регуляции сигнальной активности LMP1, вероятно, поможет лучше понять природу ВЭБ-ассоциированного канцерогенеза. Исследование выполнено при финансовой поддержке РОИЦ им.Н.Н.Блохина РАМН и Благотворительного фонда «Протек».

В.В. Елагин^{1,2}, Н.И. Евтеева², Е.А. Сергеева³, М.Л. Бугрова², Д.В. Южакова¹,

В.А. Надточенко⁴, Е.В. Загайнова²

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПОКРЫТИЯ ЗОЛОТЫХ НАНОЧАСТИЦ НА ХАРАКТЕР ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С РАКОВЫМИ КЛЕТКАМИ ДЛЯ ЗАДАЧ ГИПЕРТЕРМИИ

¹*Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород*

²*Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород*

³*Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород*

⁴*Институт химической физики РАН, Москва*

В настоящее время активно исследуются возможности применения золотых наночастиц (НЧ) для диагностики и терапии патологических состояний. Однако остается не до конца изученным вопрос об особенностях их взаимодействия с клетками. Задачей данного исследования являлось изучение особенностей взаимодействия золотых НЧ с различными типами покрытия и раковых клеток. Исследование выполнено на клетках линии SKOV-3. В работе использовали золотые НЧ в форме стержней, покрытые полиэтиленгликолем (ПЭГ) с молекулярной массой 6000Да и 40000Да, плуроником F127 и хитозаном. Взаимодействие НЧ с клетками исследовали методами многофотонной флуоресцентной и трансмиссионной электронной микроскопии. Методом многофотонной флуоресцентной микроскопии было установлено, что сигнал флуоресценции НЧ, покрытых ПЭГ 6000Да, плуроником и хитозаном регистрировался из цитоплазмы клеток, что свидетельствует о проникновении НЧ внутрь клеток. Однако, для НЧ, покрытых хитозаном, уровень сигнал был самым низким. При увеличении времени инкубации, сигнал флуоресценции от НЧ в клетках увеличивается. Для НЧ, покрытых ПЭГ 40000Да, было установлено, что они не способны проникать в цитоплазму, сигнал флуоресценции регистрировался с внешней стороны мембраны. Методом электронной микроскопии позволил установить локализацию НЧ в клетках. НЧ, покрытые плуроником, располагались в цитоплазме клеток, а также на наружной поверхности мембраны. Единичные НЧ обнаружены в ядрах клеток и митохондриях. Увеличение времени инкубации приводило к увеличению количества НЧ внутри клеток. В случае НЧ, покрытых хитозаном, через 6 часов большое количество обнаружено в цитоплазме и карิโอплазме, единичные НЧ встречались в митохондриях и на плазматической мембране. В ходе исследования было установлено, что способность НЧ проникать в клетки и характер их внутриклеточного распределения зависит от типа покрытия.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (ГК №№ 02.740.11.0713, 16.512.11.2053, договор № 11.G34.31.0017), РФФИ (проект № 12-02-00914).

Н.П. Ермакова, Н.Ю. Кульбачевская, О.И. Коняева, В.М. Бухман
**ВЛИЯНИЕ ТЕРАФТАЛА НА ТОКСИЧНОСТЬ ТАКСОТЕРА
(КОМПОНЕНТЫ СОНОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ)**

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина» РАМН, Москва

Цель исследования. Изучение токсичности комбинированного применения таксотера (Такс) с терафталом (ТФ) для использования их в сонодинамической терапии опухолей.

Материалы и методы. Препараты: Такс (доцетаксел) 20 мг (Авентис Фарма (Дагенхэм), Великобритания); Терафтал-лио 0,05г (ФГУП ГНЦ «НИОПИК»). Исследования проведены на 130 здоровых мышьяк-самцах гибридах (CBA×C₅₇Bl/6J)F₁, массой 20–23 г, полученных из питомника ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. Такс вводили животным в 0,3% концентрации внутривенно, однократно (в дозах 50, 100 и 120 мг/кг) или многократно, ежедневно в течение 3 дней в суммарных дозах 50 (эффективная терапевтическая доза для мышей) и 100 мг/кг. ТФ вводили в 0,1% концентрации в дозе 20 мг/кг через 2 часа после Такс. Контрольные группы – ТФ 20 мг/кг и интактные животные.

Результаты. Установлено, что однократное введение комбинации «Такс+ТФ» более токсично по показателям количественной токсичности чем введение одного Такс (Такс 50 мг/кг + ТФ – гибель 0/6; Такс 100 мг/кг + ТФ – гибель 1/6; Такс 120 мг/кг + ТФ – гибель 2/6). Один Такс в тех же дозах не вызвал гибели животных. Трехкратное введение комбинации «Такс+ТФ» в суммарных дозах по Такс 50 мг/кг (гибель 0/5) и 100 мг/кг (гибель 2/5) менее токсично по показателям количественной токсичности чем введение одного Такс в тех же суммарных дозах Такс 50 мг/кг (гибель 4/5) и 100 мг/кг (гибель 5/5). При трехкратном введении препаратов у животных наблюдали следующие проявления токсичности: во всех исследованных дозах как «Такс+ТФ» так и один Такс вызывали достоверное снижение массы тела (с 3 по 10 день), уменьшение количества лейкоцитов в периферической крови на 3 день по сравнению с контрольными группами. После введения одного Такс на 3 сутки в сыворотке крови животных наблюдалось увеличение уровня АЛТ в 2 раза и АСТ в 1,5 раза по сравнению с контрольными группами и группами мышей, получивших «Такс+ТФ».

Выводы. При однократном введении ТФ не усиливает токсичность Такс в эффективной терапевтической дозе для мышей (50 мг/кг). При 3-кратном введении наблюдается тенденция к уменьшению токсичности Такс при комбинации с ТФ.

М.Т. Зангиева, Е.В. Игнатьева, Н.А. Оборотова, А.Ю. Барышников
**РАЗРАБОТКА ОПТИМАЛЬНОГО СОСТАВА
ПРОСТРАНСТВЕННО СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ ЛИПОСОМ,
ЗАГРУЖЕННЫХ ДОКСОРУБИЦИНОМ.**

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Для повышения избирательности действия и понижения кардиотоксичности антрациклинов актуальным на сегодняшний день является заключение цитостатиков в липосомы. Важное значение при этом имеет постепенное высвобождение препарата в очагах опухолевого роста и увеличение циркуляции цитостатика в кровеносном русле. Для достижения данных целей разрабатываются липосомальные лекарственные формы.

Цель работы. Разработать оптимальный состав липосом, загруженных Доксорубицином.

Материалы и методы. Яичный фосфатидилхолин (РС), полиэтиленгликоль (mPEG-2000-DSPE) фирмы Lipoid, холестерин (Chol) (Sigma), Доксорубицина гидрохлорид субстанция (Докс) серия 010809 ФСП 42-2570-06 (ОАО ОНОПБ, Россия). Липосомы получали методом обращения фаз в молярном соотношении компонентов РС:Chol:mPEG—2000-DSPE 3,2:3:0,23. Затем липидную пленку гидратировали 125 мМ раствором сульфата аммония путем «мягкого» механического встряхивания до полного исчезновения пленки со стенок колбы и образования белой эмульсии. Полученную липосомальную суспензию подвергали многократной последовательной экструзии через поликарбонатные мембраны «Nuclepore» с размером пор 400, 200 и 100 нм при помощи ручного мини-экструдера. На выходе получали дисперсию малых однослойных липосом. Инкапсулирование препарата в липосомы осуществляли по принципу активной загрузки, для чего полученные пустые липосомы помещали во флакон и добавляли буфер, содержащий 10 мМ HEPES и 145мМ NaCl (рН 8,2-8,4) и Доксорубицин с концентрацией 2 мг/мл. Средний диаметр полученных везикул проводили методом корреляционной спектроскопии светорассеяния (динамического лазерного светорассеяния) на приборе Submicron Particle Sizer Nicomp-380 (США). Для разделения липосомального Доксорубицина от не включившегося в везикулы препарата использовали метод гель-фильтрации на хроматографической колонке С 10/20, заполненной сефадексом G-50, в качестве элюента использовали – 0,15 М раствор хлорида натрия. Содержание Доксорубицина в липосомах определяли методом спектрофотометрии при длине волны 252±2 нм.

Результаты и выводы. Получены липосомы с размером 150±2 нм. Содержание доксорубицина в липосомальной дисперсии составляет 2 мг/мл. Включение доксорубицина в липосомы 89,8%. Получены липосомы с высокой степенью загрузки доксорубицина.

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

ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДИКАРБАМИНА У МЫШЕЙ С МЕЛАНОМОЙ В16

¹ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

²ОАО «Валента Фарм», Москва

³МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Введение. Ранее была показана пролиферативная активность Дикарбамина (Dcr) *in vitro* на клетках мышинной меланомы В16 и затем высокий ингибирующий эффект на мышинной меланоме В16 *in vivo*. Представлялось важным изучение концентрационных характеристик Dcr в данной мишени после его перорального введения животным.

Задачи исследования. Изучение кинетики накопления Dcr в мышинной меланоме В16 после однократного перорального введения препарата в зависимости от дозы.

Материалы и методы. В исследовании использовали ³H- Dcr, полученный методом термической активации газообразного трития. В эксперименте использовали мышей линии BDF₁. Препарат вводили на 7-й день после подкожной трансплантации мышинной меланомы В16. Dcr фирмы «Валента Фармацевтика», РФ. Препарат вводили перорально в дозах: 0,5 мг (0,8 мКи)/кг, 1,5 мг (0,8 мКи)/кг, 5 мг (0,8 мКи)/кг, 15 мг (0,8 мКи)/кг и 50 мг (0,8 мКи)/кг. Мышей группировали по 6 особей на каждую временную точку. Образцы крови и опухолевой ткани отбирали через 5 мин, 15 мин, 30 мин, 1 ч, 3 ч, 5 ч и 24 ч после введения препарата. Отобранный материал подвергали щелочному гидролизу, аликвоты образцов анализировали в сцинтилляционной жидкости «Ultima gold», Perkin Elmer, на счетчиках 1219 Rack Beta, LKB Wallac.

Результаты. После однократного перорального введения ³H- Dcr в дозах 0,5 мг/кг, 1,5 мг/кг, 5 мг/кг, 15 мг/кг и 50 мг/кг в крови животных и меланоме В16 наблюдали повышение концентрации препарата с достижением максимальных величин в интервале времени 0,5 – 1,0 ч и затем в фазе выведения фармакокинетических кривых происходило медленное снижение уровней его концентрации, величины которых линейно зависели от введенной дозы. Площади под фармакокинетическими кривыми (AUC) были прямо пропорциональны введенным дозам. Соотношение величин AUC для опухоли и крови, характеризующее показатель тропности мишени к препарату, в среднем составляло 1,2.

Выводы. При всех дозах Dcr быстро поступал в кровь и меланому В16, его максимальные концентрации определяли через 0,5 – 1,0 ч после введения. В широком диапазоне доз (0,5 мг/кг – 50 мг/кг) показана линейная зависимость между концентрациями препарата в ткани-мишени и введенными дозами. Показана хорошая доступность Dcr для опухолевой ткани, показатель тропности в среднем составлял 1,2.

Е.Ю. Златник, Л.В. Передреева

ИЗБИРАТЕЛЬНАЯ НАКОПЛЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ ЦИНКА ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНЬЮ

ФГБУ «РНИИОИ» Минздрава России, Ростов-на-Дону

Нанотехнологии являются одной из приоритетных областей современной науки, в частности, биологии и медицины. Разработаны различные наноразмерные частицы (НЧ), происходит интенсивное изучение их эффектов. Нами показано противоопухолевое действие НЧ металлов, в частности Zn, на перевиваемых опухолях мышей и крыс. Для оптимизации эффекта и снижения возможных побочных реакций важно длительное присутствие НЧ, как и любого ксенобиотика, в патологическом очаге.

Задача. Сравнительное исследование содержания НЧ Zn в опухолевой и соседней немалигнизированной ткани при их паратуморальном введении.

Материалы и методы. В область перевитой внутрибрюшинно белым мышам опухоли С37 4-кратно вводили взвесь НЧ Zn, предварительно обработанных ультразвуком для предотвращения агрегации; суммарная доза составляла 20 мкг/мышь (опытная группа). Животным контрольной группы аналогично вводили физиологический раствор. Через 4 дня после окончания введения у животных обеих групп определяли содержание Zn в опухоли и в ткани брюшной стенки методом инверсионной вольтамперометрии на приборе ТА-4 производства НПО «Томьаналит» (Томск). Исследование выполняли на базе испытательной лаборатории сертификационного центра института Физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова. Озольнение образцов ткани (0,17 – 0,35 г) проводили комбинированным влажно-сухим способом. Получали по 5 вольтамперограмм в каждом из 3 каналов прибора. В качестве стандарта использовали ГСО (стандарт) цинка (1 г/л) фирмы «Экоаналитика» (Москва). Компьютерная обработка измерений выполнялась по программе VALabTx.

Результаты. Показано, что в ткани опухоли животных опытной группы содержание Zn колеблется от 137±53 до 307±120 мг/кг влажного веса, в среднем составляя 222±86,5 мг/кг. В опухолях контрольных мышей оно статистически достоверно ниже (14,7±5,8 мг/кг). В ткани брюшной стенки опытных животных содержание Zn составляет 7,7±3,0 мг/кг, а у контрольных 8,1±3,2 мг/кг, что не отличается ни между собой, ни от опухолевой ткани контрольных мышей, но в 28 раз ниже, чем в ткани опухоли опытных мышей.

Выводы. 1. Экзогенный цинк в виде наночастиц, введенный в область опухоли, концентрируется в опухолевой ткани и практически не попадает в соседнюю здоровую ткань брюшной стенки даже через 4 дня после окончания его введения. 2. У контрольных животных не установлено достоверной разницы по содержанию цинка между тканью опухоли и брюшной стенки.

Е.Ю. Златник, Л.В. Передереева

АНТИПРОЛИФЕРАТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ ЦИНКА НА МОДЕЛИ ПЕРЕВИВАЕМОЙ ОПУХОЛИ

ФГБУ «РНИИОИ» Минздрава России, Ростов-на-Дону

Наночастицы различных веществ, в частности металлов, являются перспективными для разработки на их основе новых лекарственных препаратов, в т. ч., противоопухолевых.

Задача. Изучение влияния наночастиц цинка на рост перевиваемой мышинной саркомы 37 (С37).

Материалы и методы. Наночастицы (НЧ) представляют собой ультрадисперсный порошок Zn (40 – 100 нм), покрытый оксидной оболочкой. Перед введением взвесь НЧ Zn в концентрации 1 мкг/мл обрабатывали ультразвуком. Опыты выполнены на 20 белых беспородных мышах (самцах, масса 18 – 20 г). Животным 1-й опытной группы перевивали внутрибрюшинно С37 ($8,5 \times 10^6$ клеток в 1 мл), через 4 дня на фоне опухолевого роста выполняли внутрибрюшинное введение НЧ (4 дня, суммарная доза 20 мкг/мышь), еще через 4 дня забивали. Мышам 2-й опытной группы С37 перевивали после переинкубации с НЧ (30 мин при 37 °С). 1-я и 2-я контрольные группы соответствовали опытным, но с использованием физиологического раствора вместо НЧ. Учитывали время выхода опухоли, ее размер, cito- и гистологические характеристики.

Результаты. Показано, что в контрольных группах опухоль росла с формированием асцитной и солидной части. У животных 1-й контрольной группы гистологическое исследование выявило типичную для С37 картину (плотное расположение клеток, преобладание паренхимы над стромой, обилие фигур митоза); у мышей 2-й контрольной группы отмечался выход опухоли через 11 дней и гибель через 46 дней после перевивки. В 1-й опытной группе введение НЧ Zn привело практически к полной регрессии опухоли (количество живых клеток С37 в асцитической жидкости составило 2 % от контроля), гистологическое исследование выявило обширные поля жировой дистрофии и некроза с выраженным подавлением митотической активности. У мышей 2-й опытной группы формирование визуально регистрируемых опухолей так и не произошло в течение 3 мес; не наблюдалось видимых признаков патологии или интоксикации. Итак, на модели С37 показано антипролиферативное действие НЧ Zn.

Выводы. 1. Введение НЧ Zn в область опухоли вызывает регрессию С37. 2. Преинкубация клеток опухоли перед перевивкой в течение 30 мин при 37°С с НЧ Zn полностью предотвращает ее рост. 3. Выраженный антипролиферативный эффект НЧ Zn, по-видимому, связан с его прямым повреждающим действием на опухолевые клетки.

Г.В. Зырина

НЕВРОЛОГИЧЕСКИЕ ОСЛОЖНЕНИЯ ХИМИОТЕРАПИИ ОСТРОГО ЛЕЙКОЗА

ГБОУ ВПО Тверская ГМА Росздрава, Тверь

Несмотря на положительный эффект полихимиотерапии острого лейкоза (ОЛ), известно, как тяжело она переносится большинством больных, приводя к различным осложнениям, в том числе, и со стороны нервной системы.

Задачи исследования. Изучить характер поражения нервной системы больных ОЛ, получающих химиотерапию.

Материалы и методы. Наблюдалось 80 больных лимфобластным, миелобластным, промиелоцитарным и мономиелобластным ОЛ (43 мужчины и 37 женщин; средний возраст - 38,5 года), получавших полихимиотерапию по стандартным схемам лечения. Больные обследованы клинически, при необходимости проводилась электроэнцефалография (ЭНМГ).

Результаты и выводы. Поражение нервной системы как осложнение химиотерапии встретилось у 21 (26,3 %) больных ОЛ. Токсическая энцефалопатия при эндолюмбальном введении цитостатиков (метотрексат, citarabin) диагностирована у 11 (13,8 %) больных ОЛ. Она обычно развивалась после 2-3 люмбальной пункции и проявлялась выраженным гипертензионным синдромом, иногда симптомами раздражения мозговых оболочек. Проявления токсической энцефалопатии исчезали через 2-3 суток. У всех больных с токсической энцефалопатией был отмечен низкий уровень гемоглобина (средний уровень 62 г/л), что, возможно, явилось фактором, отягчающим реакцию пациентов на химиотерапию. У 1 (1,3 %) пациента токсическое действие метотрексата при эндолюмбальном введении привело к явлению поперечного миелита с нижней параплегией. У 9 (11,3 %) пациента с ОЛ диагностирована полиневропатия, развившаяся при лечении винкристином. При ЭНМГ выявлено выраженное снижение скоростей проведения импульсов (СПИ) по чувствительным и двигательным волокнам нервов, как верхних, так и нижних конечностей. Как правило, винкристиновая полиневропатия чаще была чувствительной (5) или смешанной (4). Таким образом, поражение нервной системы при проведении химиотерапии у больных ОЛ встречается достаточно часто. Чаще всего осложнения возникают при эндолюмбальном введении цитостатиков в виде токсической энцефалопатии. Вторым по частоте осложнением является токсическая полиневропатия, развивающаяся на лечение ОЛ винкристином.

А.В. Иванов¹, Н.А. Аксенова², Н.Н. Глаголев², А.А. Сорокатый³, П.И. Толстых³, А.Б. Соловьева²
**ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩИЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ПОРФИРИНОВ
И АМФИФИЛЬНЫХ ПОЛИМЕРОВ,
СОДЕРЖАЩИЕ НАНОЧАСТИЦЫ ГИДРОКСИАПАТИТА И ЗОЛОТА**

¹ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

²ФБУН «Институт химической физики им. Н.Н.Семенова» РАН, Москва

³ФГУ «Государственный научный центр лазерной медицины ФМБА», Москва

Известно, что комплексобразование порфиринов (ПФС) с рядом амфифильных полимеров (АП) приводит к росту активности ПФС при ФДТ [Патент РФ № 2314806]. Для повышения эффективности ФДТ используют в сочетании с биологически активными препаратами или другими методами лечения, в частности, термотерапией (ТТ). Цель работы – получение фотоактивных композиций для ФДТ и сочетанной ФДТ/ТТ инфицированных ран и ожогов на основе систем ПФС-АП, содержащих наночастицы гидроксиапатита (ГА) или наночастицы золота (НЗ), и выявление степени влияния вводимых наночастиц на фотосенсибилизирующую активность ПФС в модельных условиях и в сеансах ФДТ. ГА- биоактивный материал, способствующий регенерации тканей, а НЗ способны трансформировать поглощенную энергию в тепловую, осуществляя термическое воздействие на патологические участки тканей. Установлено влияние вводимых наночастиц на фотосенсибилизирующую активность ПФС в генерации $^1\text{O}_2$ в модельных условиях. В качестве ПФС использовали фотодитазин. Активность систем ПФС-АП в воде в отсутствие и в присутствии наночастиц различной природы изучали в окислении триптофана. Использовали суспензии ГА (с размерами частиц 20–400 нм) и НЗ (размером 50 нм). Оказалось, что активность тройных систем ПФС-АП в условиях фотовозбуждения зависит от концентрации полимеров в растворе, причем соответствующая зависимость носит экстремальный характер. Наибольшая эффективность системы достигалась при соотношении АП/ ГА или АП/НЗ 2:1 (мг/мл). Соотношение ПФС/АП (м/л) составляло 1:100. Было показано также, что при лечении методом ФДТ с использованием систем ПФС-АП – НГА огнестрельных ран у экспериментальных животных и обширных гнойных ран у пациентов наблюдается уменьшение сроков заживления на 5–7 суток по сравнению с терапией бинарной системой ПФС-АП. Это, очевидно, связано с влиянием ГА на процессы репарации и заживления поврежденных тканей. Таким образом, введение наночастиц гидроксиапатита и золота в комплексы ПФС-АП позволяет создавать эффективные системы для ФДТ. При этом необходимым условием является соблюдение определенного соотношения компонентов.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант 10-02-00381).

Е.В. Игнатьева, И.В. Ярцева, Н.А. Дмитричева, Н.А. Машалова

**КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОКТАНАТРИЕВОЙ СОЛИ
ОКТАКАРБОКСИФТАЛОЦИАНИНА ЦИНКА В ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ**

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Цель исследования. Разработка методики количественного определения основного действующего вещества в лекарственной форме.

Материалы и методы. Образцы лиофилизированной инъекционной лекарственной формы, не содержащей вспомогательных веществ; спектрофотометрия.

Результаты и выводы. В ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН» проводятся исследования по разработке лекарственной формы нового сенситизатора – октанатриевой соли октакарбокситаллоцианина цинка $[\text{ZnPc}(\text{COONa})_8]$. Для количественного определения содержания основного вещества в лекарственной форме был использован спектрофотометрический метод. В электронном спектре поглощения $\text{ZnPc}(\text{COONa})_8$ наблюдаются две наиболее интенсивные полосы с максимумами поглощения при 354 ± 2 нм и 688 ± 2 нм. Интенсивность узкой полосы поглощения при 688 нм более чем в 2 раза выше, чем при 354 нм, и эта полоса расположена в области спектра, где не поглощает большая часть органических соединений. Это позволило использовать $\lambda = 688$ нм в качестве рабочей длины волны для количественного определения. Поскольку величина оптической плотности водных растворов препарата при длине волны 688 нм зависит от pH раствора, при приготовлении растворов для анализа использовали фосфатный буферный раствор pH 8,0. Специально проведенные исследования показали, что как и для растворов субстанции, поглощение растворов лекарственной формы подчиняется закону Бугера – Ламберта – Бера в диапазоне концентраций от 0,002 до 0,007 мг/мл. Определение проводили по стандартной спектрофотометрической методике с использованием рабочего стандартного образца (PCO). В качестве PCO использовали исходную субстанцию, для которой известно содержание основного вещества. В кювете сравнения использовали фосфатный буферный раствор pH 8,0. Разработанная методика обладает высокой точностью и воспроизводимостью, удобна в исполнении. Относительная ошибка определения не превышает 2 %.

Работа поддержана Правительством г. Москвы. Авторы благодарят Г.Н. Ворожцова, О.Л. Калию и др. сотрудников ФГУП «ГНЦ «НИОПИК» за предоставленные образцы субстанции.

Е.Б. Исакова, И.Д. Трещалин, Д.А. Бодягин, С.Н. Лавренов, М.Н. Преображенская, Э.Р. Переверзева
**НОВОЕ СОЕДИНЕНИЕ ИЗ КЛАССА ТРИИНДОЛИЛМЕТАНОВ,
ОБЛАДАЮЩЕЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТЬЮ**
ФГБУ «НИИНА» РАМН, Москва

Задачи исследования. Направленный поиск препаратов, эффективно влияющих на мишени опухолевого роста, представляет собой важное направление современной науки. В ФГБУ «НИИНА» РАМН синтезировано соединение, которое в исследованиях *in vitro* в субмикромольных концентрациях индуцировало апоптоз, влияло на ядерный фактор NFκB и резко ускоряло дыхание митохондрий. Задачей настоящего исследования явилось изучение его острой токсичности и противоопухолевой активности *in vivo*.

Материал и методы. Исследования проведены на мышах BDF₁(C₅₇Bl × DBA₂) самках, массой 18 – 22 грамма, полученных из Центрального питомника РАМН «Крюково». При изучении острой токсичности по методу Литчфилда и Уилкоксона 0,25% раствор препарата в 0,25% растворе твина 80 в 0,9% NaCl вводили внутривенно в различных дозах. Дозы, характеризующие токсичность, рассчитывали при помощи компьютерной программы «StatPlus 2006». Лимфолейкоз P388 перевивали внутрибрюшинно, меланому B-16 и аденокарциному АК-755 перевивали под кожу бока по 1 млн клеток на мышь. Соединение вводили однократно внутривенно в дозах 2,5; 5,0 и 7,0 мг/кг или пятикратно внутрибрюшинно ежедневно в дозах 0,5; 1,0 и 1,5 мг/кг, начиная через 24 часа после перевивки опухоли. Противоопухолевый эффект оценивали по увеличению продолжительности жизни животных (УПЖ%) или по торможению роста опухоли (ТРО%).

Результаты. Расчётные дозы соединения, характеризующие токсичность, составили: ЛД₅₀ = 9,2 (8,2÷10,2) мг/кг; МПД = 7,3(6,6÷8,0) мг/кг. Показано, что соединение, примененное внутривенно однократно в дозах 2,5; 5,0 и 7,0 мг/кг, не вызывает увеличения продолжительности жизни животных с лимфолейкозом P388. При ежедневном пятикратном применении соединения в разовых дозах 0,5; 1,0 и 1,5 мг/кг УПЖ составило соответственно 46%; 49% и 60%. При введении соединения в дозе 0,5 мг/кг пятикратно с интервалом 24 часа было получено достоверное торможение роста меланомы мышей B-16 на 97%, АК 755 на 68%

Выводы. Новое соединение из класса трииндолилметанов обладает противоопухолевой активностью в отношении как асцитной, так и солидных опухолей. Выявленная противоопухолевая активность позволяет передать препарат на дальнейшие этапы предклинического изучения.

А.В. Калугин¹, Д.В. Новиков¹, Е.Ю. Конторщикова², В.В. Новиков¹
**СРАВНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ РАКОВО-ТЕСТИКУЛЯРНЫХ ГЕНОВ
В ОБРАЗЦАХ ОПУХОЛЕВЫХ ОЧАГОВ АНГИОЛЕЙОМИОМЫ И ФИБРОЛЕЙОМИОМЫ МАТКИ**
¹«НИИ молекулярной биологии и региональной экологии» ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород
²«Нижегородская государственная медицинская академия», Нижний Новгород

Задачи исследования. Миома матки – доброкачественное новообразование миометрия. Этиология миомы матки и происходящие в клетках опухоли молекулярно-генетические изменения выяснены не до конца. Известно, что при развитии миомы происходит активация раково-тестикулярных (РТ) генов, до этого молчащих в клетках миометрия. В данной работе проведено сравнение частоты обнаружения мРНК 21 раково-тестикулярного гена в клетках ангиолейомиом и фибролейомиом матки.

Материалы и методы. Исследовали 26 образцов опухолевых очагов больных миомой матки. Из них 9 был поставлен диагноз ангиолейомиома, а 17 – фибролейомиома матки. Из исследуемых образцов выделяли суммарную РНК методом фенол-хлороформной экстракции и исследовали на присутствие мРНК генов MAGE A(1-6), XAGE1, SSX1,2,4, MAGEC1, NY-ESO-1 и GAGE1-9 методом ОТ-ПЦР.

Результаты и выводы. В образцах ангиолейомиом мРНК хотя бы одного РТ гена была обнаружена в 89 % случаев, в образцах фибролейомиом матки – 88 % случаев. В клетках ангиолейомиомы были обнаружены мРНК MAGE A(1-6) (67 %), SSX1,2,4 (78 %), MAGEC1 (33 %) и GAGE1-9 (55 %). При фибролейомиоме матки выявлялись мРНК MAGE A(1-6) (47 %), SSX1,2,4 (47 %), MAGEC1 (23 %) и GAGE1-9 (23 %). Ни в одном из протестированных образцов миомы матки мРНК гена NY-ESO-1 обнаружена не была. Матричная РНК XAGE1 выявлялась только в 1 образце фибролейомиомы матки. Сравнение полученных результатов между собой показало увеличение частоты детекции мРНК MAGE A(1-6), MAGEC1, SSX1,2,4 и GAGE1-9 в 1,4 – 2,4 раза, однако статистически значимых различий обнаружить не удалось. Таким образом, установлена тенденция к увеличению частоты активации РТ генов в образцах опухолевых очагов больных ангиолейомиомой матки, которая вероятно связана с развитием ангиолейомиомы и фибролейомиомы из различных типов клеток.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 годы и ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России» на 2007 – 2012 годы.

А.В. Калугин¹, С.В. Гамаюнов², Д.В. Новиков¹, И.С. Сумская², Е.С. Плеханова¹, В.В. Новиков¹

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ЭКСПРЕССИИ РАКОВО-ТЕСТИКУЛЯРНЫХ ГЕНОВ В ОТДЕЛЬНЫХ УЧАСТКАХ ОПУХОЛЕВОГО ОЧАГА ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

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

²*ГУЗ «Нижегородский областной онкологический диспансер», Нижний Новгород*

Задачи исследования. Раково-тестикулярные (РТ) гены характеризуются экспрессией, ограниченной гаметогенезом, эмбриогенезом и канцерогенезом. Предполагают, что РТ гены являются маркерами стволовых клеток опухолей. Ранее не проводилось исследование особенностей экспрессии мРНК РТ генов в различных частях опухолевого очага. Задачей данной работы явилось сравнение частоты обнаружения мРНК РТ генов в центре и периферии опухолевого очага, нормальной ткани больных раком желудка (РЖ) и молочной железы (РМЖ).

Материалы и методы. Исследовали секционный материал трех больных РЖ и одной больной РМЖ. Матричные РНК MAGEA(1-6), SSX1,2,4, NY-ESO-1, XAGE1, MAGEC1 выявляли методом ОТ-ПЦР.

Результаты и выводы. При РЖ в образцах опухоли была обнаружена мРНК MAGEA(1-6), SSX1,2,4, и XAGE1. В образцах нормальной ткани желудка мРНК РТ генов обнаружено не было. В центральной части опухолевого очага выявлялось наибольшее количество наименований мРНК РТ генов. Были выявлены мРНК MAGEA(1-6), XAGE1 и SSX1,2,4. В периферической части опухолевого очага у одного больного выявлены мРНК SSX1,2,4 и XAGE1, у второго – только мРНК XAGE1, а у третьего мРНК РТ генов обнаружено не было. У больной РМЖ в центральной части опухолевого очага мРНК РТ генов обнаружено не было. В периферической части опухоли была обнаружена мРНК MAGEA(1-6). В близлежащем к опухоли лимфоузле с метастазом были выявлены мРНК MAGEA(1-6) и XAGE1. Ни в одном из опухолевых очагов больных РЖ и РМЖ мРНК NY-ESO-1 и MAGEC1 обнаружены не были. Таким образом, при РЖ мРНК РТ генов чаще обнаруживались в центральной части опухолевого очага, а при РМЖ – в периферической. Вероятно, такое распределение мРНК РТ генов внутри опухолевых очагов РЖ и РМЖ связано с различным происхождением этих опухолей.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы и ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России» на 2007-2012 годы.

А.В. Киселев, Г.А. Гордина, О.И. Тарасова, М.В. Гудкова, И.Ю. Кубасова.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ В 2011 г.

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина» РАМН.

Оценка научной деятельности научно-исследовательских учреждений во многом определяется наличием качественных и количественных показателей на результаты интеллектуальной деятельности (РИД), важное значение в создании которых придается использованию нанотехнологий.

Среди 114 научных тем, запланированных в 2011 году, охраноспособные темы составили 31,5 %, т.е. каждая третья тема является патентноспособной.

В течение года подготовлено и подано в Роспатент 8 заявок на изобретения и получено 16 патентов на изобретения. Кроме того, 9 заявок на изобретения получили положительное решение о выдаче патента.

Авторы 16 изобретений, получившие патенты, премированы.

В создании изобретений ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН кооперируется с научно-исследовательскими институтами (МИТХТ им. М.В. Ломоносова, ООО «НПО Текстильпрогресс инженерной академии», ИПХФ РАН и др.), используя нанотехнологии в способах диагностики и лечения злокачественных опухолей, создании новых фармацевтических композиций и лекарственных противоопухолевых форм.

В отчетном периоде продолжена работа по анализу действующих патентов на изобретения. Прекращено поддержание в силе 8 патентов из-за невозможности их использования в коммерческих целях.

Общее число поддерживаемых патентов к концу 2011 года составило 54 патента.

С.Г. Козеев, М.А. Барышникова, Д.А. Афанасьева, С.А. Полозкова, Н.А. Оборотова, А.В. Ланцова
СРАВНЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ДВУХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ АРАНОЗЫ
ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Цель исследования. Сравнение цитотоксического действия двух лекарственных форм аранозы – липосомальной и лиофилизата для приготовления раствора для инъекций *in vitro*.

Материалы и методы. Исследование проводили на клеточных линиях опухолей человека: Mel Kog – диссеминированная меланома кожи и Jurkat – Т-клеточный лимфообластный лейкоз с применением МТТ-теста. Клетки линии Mel Kog раскапывали в 96-луночные плоскодонные планшеты в концентрации 4×10^4 клеток/мл, а клетки линии Jurkat – 25×10^4 клеток/мл. В каждую лунку добавляли по 20 мкл исследуемых препаратов в дозах 0,2 мг/мл, 0,25 мг/мл, 0,5 мг/мл, 1 мг/мл, 2 мг/мл, 2,5 мг/мл, 5 мг/мл и 10 мг/мл, и инкубировали с клетками в течение 24 ч, 48 ч и 72 ч в 5%CO₂-инкубаторе при 37 °С. Затем добавляли 20 мкл раствора МТТ, инкубировали 4 ч, после образования формазана надосадочную жидкость удаляли, осадок растворяли диметилсульфоксидом, после чего интенсивность окрашивания среды измеряли на фотометрическом анализаторе иммуноферментных реакций «АИФР-01 Униплан» (ЗАО «Пикон») при $\lambda=530$ нм. Величина поглощения прямо пропорциональна числу живых клеток.

Результаты. ИК₅₀ на линии Mel Kog через 24, 48 и 72 ч инкубации для аранозы лиофилизата для приготовления раствора для инъекций – 1 мг/мл, 0,8 мг/мл и 0,5 мг/мл соответственно, а для липосомальной лекарственной формы – 0,75 мг/мл, 0,35 мг/мл и 0,25 мг/мл соответственно. ИК₅₀ на линии клеток Jurkat для аранозы лиофилизата для приготовления раствора для инъекций – 1 мг/мл, 0,5 мг/мл и 0,35 мг/мл соответственно и для липосомальной лекарственной формы – 0,4 мг/мл, 0,35 мг/мл и 0,25 мг/мл соответственно. На линии клеток Mel Kog максимальный цитотоксический эффект при инкубации 24 ч и 48 ч для липосомальной лекарственной формы аранозы составил 64 %, 83 % и для аранозы лиофилизата для приготовления раствора для инъекций – 59 %, 72 %, на линии Jurkat – 84 %, 92 % и 75 %, 87 % соответственно. При инкубации 72 ч цитотоксический эффект у обеих лекарственных форм был одинаковым и составил 90 – 93 %.

Выводы. У липосомальной лекарственной формы аранозы ИК₅₀ ниже, чем у аранозы лиофилизата для приготовления раствора для инъекций на исследуемых клеточных линиях при всех сроках инкубации. Максимальный цитотоксический эффект липосомально лекарственной формы аранозы при инкубации 24 ч и 48 ч был более высоким. Следовательно, липосомальная лекарственная форма аранозы обладает большей эффективностью.

С.Г. Козеев, М.А. Барышникова, С.А. Полозкова, Н.А. Оборотова
РАЗРАБОТКА НАНОСТРУКТУРИРОВАННОЙ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ АРАНОЗЫ
ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Введение. Араноза – высокоэффективный отечественный препарат из группы нитрозоалкилмочевин, применяется у взрослых при лечении меланомы кожи как в монорежиме, так и в комбинациях с другими противоопухолевыми препаратами. С развитием нанотехнологии и использованием липосом для направленной доставки активных субстанций была разработана новая наноструктурированная лекарственная форма аранозы в виде стерически стабилизированных липосом.

Цель исследования. Разработка наноструктурированной липосомальной формы аранозы (НЛЛФ) с оптимальным содержанием действующего вещества во флаконе, определение ее технологических характеристик.

Материалы и методы. Изготовление больших многослойных липосом (БМЛ) осуществляли методом гидратации липидной пленки, стабилизированном раствором аранозы с водородным показателем ионов 4,5. Для этого использовали липиды: фосфатидилхолин (LIPOID E PC S, Германия, Lec), холестерин (SIGMA, Германия, Chol), ПЭГ-2000-дистеароилфосфатидилэтаноламин (LIPOID, Германия, DSPE-PEG-2000), субстанция аранозы (РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН). Полученную дисперсию БМЛ Аранозы экструдировали через поликарбонатные фильтры с уменьшающим диаметром пор и получали малые однослойные везикулы (МОЛ) аранозы. Для очистки липосомальной дисперсии от невключенной аранозы использовали метод колоночной гель-фильтрации. Контроль разделения фракции осуществляли с помощью проточного УФ-спектрометра Uvis-9020. Количественное содержание аранозы в липосомах определяли спектрофотометрически. Диаметр везикул измеряли на наносайзере Nicomp 380 Submicron Particle Sizer (США). Для стабилизации липосом в процессе хранения проводили их лиофилизацию с использованием в качестве криопротектора 8% раствор лактозы.

Результаты и выводы. Разработана наноструктурированная липосомальная форма аранозы с молярным соотношением липидных композиций и активного вещества Lec:Chol:DSPE-PEG-2000:араноза – 1,0:0,24:0,016:0,79, размером везикул 160 – 170 нм и эффективностью включения аранозы в липосомы 75 – 80 %. Содержание действующего вещества во флаконе 100 мг.

А.П. Козлов

**ОБНАРУЖЕНИЕ НОВОГО БИОЛОГИЧЕСКОГО ФЕНОМЕНА –
ЭКСПРЕССИИ ЭВОЛЮЦИОННО НОВЫХ ГЕНОВ В ОПУХОЛЯХ**

Биомедицинский центр, Санкт-Петербург

В течение ряда лет мы разрабатываем концепцию возможной эволюционной роли опухолей. Согласно этой концепции, опухоли являются источником избыточных клеточных масс, которые используются в эволюции многоклеточных организмов для экспрессии эволюционно новых генов. Это ведет к происхождению новых типов клеток, тканей и органов.

Нетривиальным предсказанием концепции положительной эволюционной роли опухолей является предсказание об экспрессии в опухолях эволюционно новых генов. Мы предприняли попытку экспериментальной проверки данного предсказания, используя два взаимно дополнительных подхода. В рамках первого подхода исследовалась эволюционная новизна опухолеспецифических последовательностей. В рамках второго подхода изучалась опухолеспецифичность эволюционно новых генов. Полученные результаты подтверждают предсказание об экспрессии в опухолях эволюционно новых генов.

А.С. Козлов, А.А. Красновский

**МОДЕЛИРОВАНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ РАСТВОРЕННОГО КИСЛОРОДА
В СВЯЗИ С ПРОБЛЕМОЙ ТЕРАПИИ РАКА ИК ЛАЗЕРНЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ**

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

Известно, что ИК лазерное излучение эффективно при фототерапии рака кожи и внутренних органов. Однако развитие этого метода терапии тормозится неясностью механизма терапевтического действия. Выдвинута гипотеза, что происходит прямое лазерное возбуждение молекул кислорода, растворенного в клетках и тканях. При этом образуется синглетный кислород, который вызывает разрушение опухоли, т.е. кислород одновременно служит фоторецептором и окисляющим агентом. Простота и наглядность такого механизма привлекли к нему большое внимание. Однако известно, что интенсивность ИК полос поглощения молекул кислорода очень низка. В естественных условиях абсорбционные полосы кислорода настолько слабы, что их невозможно измерить прямыми спектроскопическими методами. В течение последних нескольких лет нашей лабораторией в содружестве с РОНЦ и ФиРАН выполнены работы по моделированию фотосенсибилизирующего действия кислорода в естественных системах. Показано, что облучение аэробных растворов ИК лазерами разных систем приводит к окислению химических ловушек синглетного кислорода – тетрацена, 1,3-дифенилизобензофурана или мочевиной кислоты. В настоящей работе представлены последние результаты изучения этого эффекта в спиртовых и гетерогенных водно-детергентных системах. Наилучшие результаты получены путем сравнительного анализа фотоокисления ловушек при фотосенсиблированном порфирином и прямом возбуждении кислорода. Показано, что хотя процесс фотовозбуждения кислорода действительно происходит в водных системах, вызванная этим процессом скорость фотоокисления ловушек очень мала и вряд ли может вызвать некроз раковых клеток в живом организме. Однако возможно, что этот эффект достаточен для запуска сигнальных механизмов, определяющих процесс апоптоза или стимуляцию иммунных систем организма.

М.Т. Койбаева¹, Л.З. Болиева¹, В.В. Решетникова², А.В. Сергеев²

ВЛИЯНИЕ ЛИКОПИНА НА ВОЗНИКНОВЕНИЕ ОПУХОЛЕЙ ПЕЧЕНИ, ИНДУЦИРОВАННЫХ У КРЫС N-НИТРОЗОДИЭТИЛАМИНОМ

¹ГБОУ ВПО СОГМА Минздравсоцразвития России, Владикавказ

²ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Злокачественные новообразования печени характеризуются одними из самых низких показателей пятилетней выживаемости больных, при этом частота их неуклонно растет во всем мире, прежде всего, в связи с повсеместным ростом заболеваемости вирусными гепатитами. Все вышесказанное диктует настоятельную необходимость разработки эффективных и безопасных методов профилактики рака печени. В ряде исследований установлена химиопрофилактическая активность ликопина. Для решения вопроса о перспективах клинического применения ликопина в качестве средства профилактики рака печени необходимы дополнительные экспериментальные исследования и доклиническое изучение механизмов его химиопрофилактической активности.

Цель исследования. Изучение влияния ликопина на возникновение опухолей печени, индуцированных у крыс N-нитрозодиэтиламино (НДЭА).

Материалы и методы. Эксперимент проведен на крысах-самцах линии Вистар. Опухоли печени и пищевода индуцировали добавлением к питьевой воде НДЭА в концентрации 100 мг/л в течение 4 месяцев. Животные были разделены на 2 группы: крысы 1-й группы служили контролем и получали только канцероген; животные 2-й группы получали дополнительно ликопин (БАД «Гоматол», ЗАО «Биопрогресс», Россия) в дозе 30 мг/кг. Антиканцерогенную активность оценивали по изменению числа животных с новообразованиями печени и степени малигнизации ткани печени.

Результаты. В контрольной группе новообразования печени развились у 100% животных. Ликопин оказывал выраженное ингибирующее действие на канцерогенез, что проявилось в статистически достоверном снижении частоты возникновения неопластических изменений (с 100% до 63,3%) и в более поздней малигнизации в ткани печени. Было также отмечено статистически достоверное повышение выживаемости животных при применении ликопина по сравнению с животными контрольной группы.

Выводы. Результаты эксперимента свидетельствуют о наличии у ликопина химиопрофилактической активности в отношении канцерогенеза печени, индуцированного НДЭА. Полученные данные позволяют рекомендовать клиническое изучение с целью их дальнейшего внедрения в практику в качестве средств профилактики рака печени.

Е.Ю. Колдаева, Е.Ю. Григорьева, Ю.В. Стукалов, А.С. Масько

ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ REDOX-ДЕНДРИМЕРОВ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

В последние годы нами ведутся работы по созданию таргетных противоопухолевых нанопрепаратов на основе дендримеров. REDOX-дендример является представителем окислительно-восстановительных дендримеров. В соответствии с требованиями, предъявляемыми к разрабатываемым противоопухолевым препаратам, полученный REDOX-дендример изучали на предмет острой токсичности.

Материалы и методы. В эксперименте использовали мышей BDF1 3-го месяца жизни. Соединение вводили внутривенно в 0,2 мл 10% ДМСО на физиологическом растворе. Испытывали 6 доз, формируя подопытные группы из 6 мышей. Испытывали дозы (мг/кг массы тела): 250; 400; 700; 850; 1000; 1500. Наблюдение за животными осуществляли в течение одного месяца, ежедневно отмечая изменения в их состоянии и поведении, и 2 раза в неделю проводили взвешивание. Павших мышей вскрывали, оценивали выраженные изменения кожных покровов и внутренних органов. Определяли значения максимально переносимой дозы (МПД), абсолютно смертельной дозы (LD100) и по методу Кербера рассчитывали среднюю смертельную дозу (LD50).

Результаты и выводы. Соединение при введении в сублетальных дозах не вызывало видимых нарушений в состоянии и поведении животных. Была определена МПД, равная 850 мг на 1 кг массы тела. Порог острого действия соединения Lim_{ac} совпадал с МПД. При введении сублетальных доз отмечали состояние заторможенности без признаков атаксии или местных парезов. При введении летальных доз смерть наступала от 2,5 ч до 2 суток, в зависимости от дозы. Отмечали транзиторное возбуждение, переходящее в сопорозное состояние. У выживших животных транзиторная потеря составляла 5 – 10 % массы тела в течение первых 3 дней после введения. Признаков хронической интоксикации не наблюдали. На вскрытии павших животных: кожные покровы не изменены, легкие бледны. Петли тонкого кишечника имеют признаки воспаления (петехии, отечность). Сердце, почки, печень без визуальной выраженной патологии. На основании макркартинги вскрытия можно говорить об энтеро- и пульмотоксичности соединения. Рассчитанное значение LD50 составляло 804 мг на 1 кг массы тела. Таким образом, учитывая его низкую токсичность, REDOX-дендример может быть использован для создания таргетных противоопухолевых препаратов.

Н.В. Комлева¹, М.А. Лапина¹, И.И. Маслова², И.В. Балаева², Г.В. Костюк¹, В.Д. Сень¹, А.А. Терентьев¹
ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ АМИНОНИТРОКСИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ПЛАТИНЫ(IV)

¹*Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка*

²*Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород*

Комплексы платины, цисплатин и его аналоги, являются одними из наиболее широко применяемых химических соединений для химиотерапии опухолей. Несмотря на успехи в лечении ряда опухолей, их клиническое применение ограничено из-за серьезных побочных эффектов. Нитроксильные радикалы, обладающие антиоксидантными свойствами, могут быть использованы для создания соединений с меньшей токсичностью. Нами синтезирован ряд аминитроксильных комплексов платины(IV), содержащих нитроксильные радикалы и аксиальные лиганды разной структуры.

Влияние аминитроксильных комплексов платины на опухолевые клетки сопоставлялось с эффектами комплекса JM216 – препарата, который в настоящее время проходит клинические испытания. Обнаружено, что введение нитроксильного радикала вместо циклогексановой группировки в структуре JM216 существенно снижает цитотоксичность полученного комплекса Pt(IV). Внесение жирных кислот в аксиальные позиции комплексов четырехвалентной платины не только восстановило их цитотоксическую активность, но позволило получить комплексы, обладающие цитотоксичностью, превосходящей таковую для JM216 на несколько порядков.

Внутриклеточное накопление аминитроксильных комплексов платины зависит от структуры их аксиальных лигандов. Прямой нитроксильный аналог комплекса JM216 обладает самой низкой скоростью накопления, в то время как комплексы с измененными аксиальными лигандами проявляют высокую скорость внутриклеточного накопления. Таким образом, как цитотоксичность, так и внутриклеточное накопление коррелируют с липофильностью комплексов. Аминитроксильные комплексы платины вызывают клеточную шибель с характерной для апоптоза фрагментацией ДНК, морфологией ядер и деградацией субстрата каспаз – поли(АДФ)рибозополимеразы.

Исследовано развитие цитотоксичности комплексов платины в зависимости от времени импульсной экспозиции. Обнаружено, что скорость развития цитотоксичности имеет обратную корреляцию с липофильностью комплексов.

Работа поддержана грантом РФФИ 11-04-97096-р поволжье_а и ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы.

*Н.П. Коновалова, Т.Е. Сашенкова, Е.Н. Климанова, Д.В. Мищенко, С.А. Гончарова,
Т.А. Раевская, Т.Н. Якущенко, А.Б. Корнев, Е.А. Хакина, П.А. Трошин*

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНОГО ФУЛЛЕРЕНА НА АКТИВНОСТЬ АНТРАЦИКЛИНОВОГО АНТИБИОТИКА

Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка

Использование наночастиц в медицине – это новые возможности повышения эффективности терапии многих заболеваний и, в частности, злокачественных опухолей. В современных биомедицинских исследованиях много внимания уделяется изучению водорастворимых фуллеренов. В настоящей работе на экспериментальных моделях опухолей исследована сравнительная противоопухолевая активность препарата «Эмоксил» (нитроксильного производного даунорубина), прошедшего 2 фазы клинических испытаний, и нековалентного конъюгата производного фуллерена и препарата Эмоксил (КВ-747). Препарат КВ-747 был в два раза менее токсичен, чем Эмоксил (ЛД₅₀ – 30 и 15 мг/кг, соответственно). Препарат КВ-747 проявил значительную антилейкемическую активность на моделях лейкемии Р388 и L-1210. В первом случае полностью излечивались 60 % животных, во втором – 40 %. Этот показатель для Эмоксила составлял 10 % и 0 % соответственно. Исследование препарата КВ-747 показало наличие антиметастатического эффекта. Для определения этого эффекта были использованы метастазирующие модели экспериментальных опухолей – меланома В-16 и карцинома легких Льюиса (LL-карцинома). Индексы ингибирования метастазов меланомы В-16 составляли 64 % для Эмоксила и 94 % для препарата КВ-747. Для LL-карциномы эти индексы составляли 35 % и 59 % соответственно. Несколько повышенную активность препарат КВ-747 проявил на лейкемии Р-388 с фенотипом множественной лекарственной устойчивости: увеличение средней продолжительности жизни животных составляло 260 % для препарата КВ-747 и 140 % для Эмоксила. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о способности фуллерена повышать противоопухолевую активность цитостатика, возможно, за счет его мембранотропности.

К.Н. Конторщикова¹, А.В. Алясова¹, В.В. Новиков², А.В. Караулов³, А.Ю. Барышников⁴

ВЛИЯНИЕ НИЗКИХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ОЗОНА НА ИЗМЕНЕНИЯ СЫВОРОТОЧНОГО УРОВНЯ РАСТВОРИМОГО FAS АНТИГЕНА И КОЛИЧЕСТВА FAS⁺ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

¹Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород

²Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород

³Первый МГМУ им. М.И. Сеченова, Москва

⁴ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Цель исследования. Выявить особенности влияния низких терапевтических концентраций озона на изменения сыровоточного уровня растворимого FAS антигена и количества FAS⁺ мононуклеарных клеток периферической крови. **Материалы и методы.** Исследование выполнено на образцах крови 300 больных раком молочной железы (РМЖ), преимущественно с III–IV стадиями заболевания (73,6 %). Во всех случаях диагноз был подтвержден гистологически. Методика введения озонированного физиологического раствора (ОФР) на фоне полихимиотерапии разработана авторами. Иммунофенотипирование мононуклеарных клеток периферической крови проводили с помощью моноклональных антител серии ИКО в реакции непрямой иммунофлуоресценции. Сыровоточное содержание растворимого CD95 (sCD95) антигена определяли разработанным авторами иммуноферментным методом. **Результаты.** При совместном воздействии ОФР и полихимиотерапии наблюдалось снижение среднего сыровоточного уровня sCD95 антигена. В случаях применения только цитостатических препаратов усредненный сыровоточный уровень растворимого CD95 антигена не менялся и даже имел тенденцию к увеличению. Под влиянием полихимиотерапии и ОФР происходила нормализация количества CD95⁺ мононуклеарных клеток. Стандартная полихимиотерапия не сопровождалась статистически достоверными изменениями относительного содержания CD95⁺ клеток. Кроме того, под влиянием ОФР и полихимиотерапии в образцах крови больных, вышедших в ремиссию заболевания и не имевших рецидивов, было выявлено статистически достоверное повышение относительного содержания CD50⁺ и CD71⁺ клеток. Стандартная полихимиотерапия такими изменениями в уровне тестированных клеток не сопровождалась. Различия в направленности изменений экспрессии активационных антигенов CD71 и CD95 вероятно обусловлены специфическим характером действия озонированного физиологического раствора, приводящим, с одной стороны, к активации иммунной системы, а, с другой, к ограничению Fas-зависимой инициации апоптоза иммунокомпетентных клеток.

О.И. Коняева, Н.Ю. Кульбачевская, Н.П. Ермакова, И.Б. Меркулова, Т.В. Абрамова, В.М. Бухман

ИЗУЧЕНИЕ «ОСТРОЙ» ТОКСИЧНОСТИ ЦИФЕТРЕЛИНА НА МЫШАХ И КРЫСАХ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Цифетрелин (ЦФ) – аналог гипоталамического гормона соматостатина, показал высокую противоопухолевую активность в эксперименте на перевиваемых опухолях мышей. ЦФ синтезирован и проходит доклиническое исследование в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН.

Цель исследования. Изучение «острой» токсичности ЦФ.

Материалы и методы. Работа проведена на 60 здоровых мышках-самцах гибридах (СВА×С₅₇Bl/6J)F₁ и 30 здоровых неинбредных беспородных крысах-самцах, полученных из разведения ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина» РАМН. Препарат – гранулят сер. 01.02.10., содержащий 57,3 мг ЦФ в 1 г. Препарат вводили однократно per os в 20% (максимально возможная) концентрации. В качестве растворителя использовали 1% крахмальный клейстер. Мышам ЦФ вводили в дозах 100; 200; 300 и 600 мг/кг, крысам в дозах 100; 200 и 400 мг/кг. Дальнейшее увеличение дозы лимитировано объемом. Срок наблюдения за животными – 30 суток. Критериями оценки «острой» токсичности служили: число павших животных и сроки их гибели, клиническая картина интоксикации и патологические изменения в тканях и внутренних органах, выявляемые при аутопсии павших и выживших животных, умерщвленных в конце опыта (макроскопическая оценка). Большое внимание уделялось поведенческим реакциям. Фиксировали все патологические изменения в поведении и клиническом состоянии животных.

Результаты. При изучении «острой» токсичности на мышках изменений в поведении и клиническом состоянии животных не наблюдалось. Отмечалась гибель 2/14 мышей, получавших препарат в дозе 600 мг/кг на 19 – 20 день наблюдения. При аутопсии павших животных отмечено небольшое уменьшение селезенки, остальные органы – без особенностей. У животных, получавших ЦФ в дозах 300 и 600 мг/кг, по сравнению с группами, получавшими меньшие дозы препарата и контрольными мышками, на 3 – 14 сутки наблюдения отмечена незначительная задержка физиологического увеличения массы тела, при аутопсии умерщвленных в конце опыта животных отмечено небольшое уменьшение селезенки остальные органы – без особенностей. При изучении «острой» токсичности на крысах гибели животных и патологического изменения массы тела не наблюдалось. При аутопсии отмечено небольшое уменьшение селезенки у крыс, получавших препарат в дозе 400 мг/кг, остальные органы – без особенностей.

Заключение. Превышение предполагаемой терапевтической дозы препарата в 60 – 80 раз не вызвало гибели животных.

Л.И. Короленкова¹, Е.В. Анисенкова², А.А. Бабаев², В.В. Новиков²

РАСТВОРИМЫЕ МОЛЕКУЛЫ АДГЕЗИИ (CD54, CD50, CD18), HLA1 И CD8 КАК ОТРАЖЕНИЕ ИММУННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ У БОЛЬНЫХ С1N И РАКОМ ШЕЙКИ МАТКИ

¹ФГБУ «РОИЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

²Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород

Цель исследования. Нарушения адаптивного иммунного ответа у ВПЧ-инфицированных женщин при С1N и раке шейки матки (РШМ) связаны с экспрессией молекул адгезии CD54, CD50, CD18, а также HLA1, CD8 на поверхности взаимодействующих иммунокомпетентных клеток, АПК и кератиноцитов, что в результате шеддинга с клеточных мембран имеет отражение в их сывороточном содержании. Исследование уровня этих молекул и их растворимых ассоциатов поможет определить их роль в патогенезе РШМ для поиска путей активации иммунологического контроля и предотвращения прогрессии С1N. **Материалы и методы.** Уровень растворимых форм молекул адгезии проводили с помощью твердофазного иммуноферментного анализа с применением моноклональных антител серии ИКО. В работе использована коллекция образцов сыворотки и плазмы крови, полученных до лечения от 160 больных, обследованных в ФГБУ «РОИЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН в 2008–2010гг. по научному протоколу: 21 – С1N1-И, 22 – С1N1-III, 53 – С1N1/С1S, 20 – микрокарциномой (мРШМ) и 44 – инвазивным РШМ. В качестве контроля использовали показатели сыворотки крови 90 здоровых женщин. **Результаты.** При С1N1-И сывороточное содержание суммарной фракции CD54 было выше в 1,7 раза, при С1N1/С1S – в 1,6 раза, при мРШМ и РШМ – в 1,5 раза по сравнению с контрольными. При мРШМ и РШМ содержание CD18-CD54 увеличивалось в 1,6 раза. При С1N1-III, С1N1/С1S и РШМ наблюдалось снижение уровня суммарной фракции CD50 в 1,3 раза. При этом содержание CD18-CD50 повышалось в 1,4 раза при С1N1-И и в 1,3 раза при С1N1/С1S. Выявлено увеличение суммарной фракции CD8 при С1N1-И в 1,9 раза, при С1N1/С1S – в 2 раза, при мРШМ и инвазивном раке – в 1,9 раза. При этом содержание растворимых форм HLA1 было выше в 1,1 раза при С1N1-И и РШМ, а HLA1-CD8 - в 1,2 при С1N1-И, мРШМ и РШМ. **Выводы.** Увеличение по сравнению с нормой суммарной фракции CD54, ассоциатов CD18-CD54 при снижении суммарной фракции CD50 у больных легкими С1N являются негативными прогностическими факторами. В то же время тождественные изменения сывороточных показателей (CD54, CD18-CD54, CD50, CD8) при разных степенях цервикальной неоплазии может свидетельствовать о сходных генетически опосредованных нарушениях МНС у всех пациенток с риском прогрессии до тяжелых С1N.

Ю.М. Краснополяский¹, А.Е. Степанов², В.И. Швец², А.Е. Шахмаев¹

ЛИПОСОМАЛЬНЫЕ ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ ВСПОМОГАТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ В ОНКОЛОГИИ

¹НГУ «ХПИ», Москва

²МГА ТХЧТ им. М.В. Ломоносова, Москва

Задачи исследования. Проведение химиотерапии и лучевой терапии (ХиЛТ) всегда сопряжено в процессе лечения с побочными эффектами (ПЭ), обусловленными влиянием лечения на здоровые органы и ткани человека. Эффективность лечения в значительной степени связана с защитной функцией ряда вспомогательных препаратов и проводимой премедикацией. Врачам постоянно приходится сталкиваться с устранением ПЭ при проведении лечения опухолей. Задачей исследования является изучение возможности использования липосомальных препаратов (ЛсП) для снижения ПЭ.

Материалы и методы. В работе были использованы ЛсП, полученные по разработанной нами технологии: Липин – ЛС форма фосфатидилхолина, Липофлавон – ЛС форма кверцетина, Лиолив – ЛС форма гепатопротектора антраля.

Результаты и выводы. Помня о том, что при всех повреждениях тканей (печени, сердца, почек, нервной системы и др.) отмечается повреждение мембран (М), патогенетически обоснованным является назначение терапии, оказывающей восстановительное и регенерирующее действие на структуру и функции клеточных М, что и обеспечивает торможение процесса деструкции клеток. Поэтому Лс, как искусственные фосфолипидные М в значительной степени решают вопрос восстановления структуры М при осложнениях после проведения ХиЛТ. Одним из таких препаратов является Липин, который нашел широкое применение для лечения ряда заболеваний. По нашему мнению, роль Липина при клиническом использовании еще недостаточно оценена, т. к. препарат представляя модель биологической М, обладая уникальным фармакотерапевтическим диапазоном, может являться М-протектором для большинства биологических М организма. Лиолив ингибирует процессы перекисного окисления липидов в крови и тканях, поддерживает активность антиоксидантных систем организма, выполняет функцию неспецифического детоксиканта, проявляет М-протекторный и противовоспалительный эффект. При введении Липофлавона наблюдается выраженный противоритмический эффект во время химиотерапии антрациклинами по сравнению с группой контроля не получавшей ЛсП. Т. о., добавление к базовой химиотерапии антрациклинами ЛС кверцетина весьма эффективно т. к. снижается частота осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы. Для снижения ПЭ при химиотерапии опухолей (появление химиорезистентности, токсичности, низкой эффективности) возможно применение ЛсП для вспомогательной терапии.

Н.Ю. Кульбачевская, О.И. Коняева, Н.П. Ермакова, И.Б. Меркулова, Т.В. Абрамова, В.М. Бухман
ИЗУЧЕНИЕ «ХРОНИЧЕСКОЙ» ТОКСИЧНОСТИ ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ТИОСЕНСА НА КРЫСАХ

ФГБУ «РОИЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Фотосенсибилизатор Тиосенс в лиофилизированной липосомальной лекарственной форме (ЛЛЛФТ) создан для применения в фотодинамической терапии опухолей.

Цель исследования. Изучение «хронической» токсичности ЛЛЛФТ при 3-кратном ежедневном внутривенном применении крысам.

Материалы и методы. Работа проведена на 40 неинбредных крысах. Препарат вводили крысам внутривенно 3-кратно ежедневно в концентрации 1,5 мг в 3 мл воды для инъекций в суммарных дозах 27 и 9 мг/кг. Контроль – 2 группы животных: интактный контроль и животные, получавшие «пустые» липосомы в эквиваленте максимальной дозы препарата. Изучали действие препарата на периферическую кровь, функциональное состояние сердечно-сосудистой системы, печени, почек, желудочно-кишечного тракта.

Результаты. У крыс после каждого введения ЛЛЛФТ в течение 10 – 15 минут независимо от дозы отмечалась заторможенность и адинамия. ЛЛЛФТ независимо от дозы не оказывал влияния на общее состояние крыс, не вызывал внешних проявлений токсичности, не изменял поведенческие реакции, не влиял на изменение массы тела животных. Клинический анализ крови показал достоверное уменьшение количества лейкоцитов на 3 сутки после введения препарата в двух опытных группах, с восстановлением к 7 суткам. В контрольных группах изменения количества лейкоцитов не отмечалось. В опытных группах отмечалось уменьшение количества эритроцитов и гемоглобина на 7 сутки наблюдения и уменьшение количества тромбоцитов на 3-7 сутки наблюдения, а в контрольной группе, получавшей «пустые» липосомы – только уменьшение количества тромбоцитов на 7 сутки наблюдения. Анализ ЭКГ животных показал: на 3 сутки достоверное дозозависимое увеличение ЧСС у крыс, получивших ЛЛЛФТ в обеих дозах и «пустые» липосомы по сравнению с интактным контролем с восстановлением к 15 суткам.

Заключение. 3-кратное ежедневное внутривенное применение ЛЛЛФТ вызывает не дозозависимые обратимые изменения в периферической крови крыс (уменьшение количества лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина и числа тромбоцитов); ЛЛЛФТ оказывает дозозависимое обратимое влияние на кровоснабжение сердечной мышцы, проявляющееся достоверным увеличением частоты сердечных сокращений у животных.

Ю.Н. Лазутин, С.П. Пыльцин, С.Н. Кабанов, А.Ю. Мисюренко

РЕЗУЛЬТАТЫ АДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОИМУНОТЕРАПИИ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЛЕГКОГО С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОТЕЧЕСТВЕННОГО РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРФЕРОНА-ГАММА – ИНГАРОНА

Ростовский НИИ онкологии МЗ РФ, Ростов на Дону

Цель исследования. Оценить эффективность и переносимость новой методики адьювантной химиоиммунотерапии (АХИТ) с использованием отечественного рекомбинантного гамма-интерферона – ингарона.

Материалы и методы. В исследование включено 42 пациента, радикально оперированные по поводу аденокарциномы легкого 1 – 3А стадии в Ростовском НИИ онкологии с 2007 по 2011 гг. Средний возраст составил 58,8 лет, мужчин 28 (66,7 %), женщин 14 (33,3 %). Распределение по стадиям TNM было следующим: 1 ст. у 21 (59,5 %) больных; 2 ст. у 10 (23,8 %); 3А ст. 11 (26,2 %). Пневмонэктомия – 13 (31 %), лобэктomia – 25 (59,5 %), сублобарных резекций 4 (9,5 %). Больные были рандомизированы на две группы: в 1-й группе 22 пациентам с 21 дня после операции проводилась адьювантная химиоиммунотерапия (АХИТ) с включением отечественного препарата рекомбинантного гамма-интерферона – ингарон. После пневмонэктомии АХИТ проводилась по схеме: карбоплатин (AUC5) 1-й день + этопозид (100мг×м²) 1, 3, 5 дни; ингарон (500 тыс. МЕ×м², не более 1 млн. МЕ на одно введение) 2, 4, 6 дни в/в капельно; после лобэктomии: цисплатин (100мг×м²) 1-й день + этопозид (100мг×м²) 1, 3, 5 день; ингарон 2, 4, 6 дни. 20 больным 2-й группы проводилась адьювантная химиотерапия теми же режимами, без использования ингарона. Медиана наблюдения – 17,8 месяцев. Безрецидивная выживаемость (DFS) рассчитывалась методом Kaplan–Meier от дня радикальной операции до даты регистрации рецидива. Различия между группами определялись методом log-rang test. **Результаты.** 19 (86 %) пациентам проведено 3 запланированных курса АХИТ, 3 (14 %) пациентам было проведено 2 курса, в связи с отказом от продолжения лечения из-за развития токсических реакций: у 1 пациента на третьем курсе развилась ранняя токсическая реакция на этопозид, у 2 пациентов на протяжении лечения отмечалась тошнота/рвота 3 ст., плохо купируемая современными антиэметическими препаратами. У 18 (81 %) пациентов в первые часы после введения ингарона отмечался гриппоподобный синдром, который купировался самостоятельно в течении 3 – 4 ч. 1-летняя DFS в 1-й группе составила 95,4 %, 2-летняя 86,3 %, во 2-й группе 85 % и 70 % соответственно. **Выводы.** Клиническое применение новой методики АХИТ показало тенденцию к увеличению 2-летней безрецидивной выживаемости на 16,3 %, при удовлетворительной выполнимости (86 %) за счет малого количества и негематологического спектра побочных токсических реакций.

Ю.Н. Лазутин, П.А. Анистратов, С.П. Пыльцин

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРЛЕЙКИНА-2 В ИНТРАОПЕРАЦИОННОЙ ХИМИОИМУНОТЕРАПИИ РАННИХ СТАДИЙ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

Ростовский НИИ онкологии МЗ РФ, Ростов на Дону

Цель исследования. Изучить эффективность методики интраоперационной химиоиммунотерапии (иХИТ), оценить ее переносимость и влияние на иммунный статус больных НМРЛ в раннем послеоперационном периоде. **Материалы и методы.** В исследование включены 20 радикально оперированных больных с 1В – 3А стадиями НМРЛ находившихся на лечении в Ростовском НИИ онкологии с января 2009 г. по июнь 2010 г. Средний возраст – 60 лет (52 – 71 г.); мужчин – 17 (85 %), женщин – 3 (15 %). Пневмонэктомия – 7 (35 %), лобэктомия – 11 (55 %), сублобарная резекция – 2 (10 %). Постхирургическая 1В ст. – 14(70 %) пациентов, 2В ст. – 5 (25 %), 3Аст. – 1 (5 %); инвазия в микрососуды – 14 (70 %), которым проведена иХИТ по следующей методике: у больного производили забор крови в количестве 300 мл в емкость с гемоконсервантом. Кровь сепарировали, клеточную массу соединяли со 150 мг/м² карбоплатина и с100 мг/м² этопозид. Плазму соединяли с 1 млн МЕ рекомбинантного интерлейкина-2 (рИЛ-2) – ронколейкина, инкубировали при 37 °С в течение 30 мин и вводили в/в капельно во время манипуляций на легком. Иммунологические исследования проводили до и на 4 – 5 день после операции. Безрецидивная выживаемость (DFS) рассчитывалась от даты выполнения радикальной операции с использованием метода Kaplan–Meier.

Результаты. Возникшие в раннем послеоперационном периоде расстройства, регистрировались в соответствии с критериями NCIC-CTG. Больные чаще жаловались на боли в суставах и мышцах, по видимому, обусловленные действием рИЛ-2, вызывающим гриппоподобный синдром. Эти симптомы, появляющиеся на 2 – 3 сутки после операции, самостоятельно купировались. У пациентов получивших иХИТ после операции выявлено статистически достоверное повышение относительных показателей Т- лимфоцитов (57,6 %* против 46,3 %), CD4+ (33,2 %*против 23,1 %) и CD16 + (21,8 %* против 15,2 %) клеток (*p<0,05). Данные свидетельствуют о том, что несмотря на введение цитотоксиков, иХИТ с использованием рИЛ-2 вызывает позитивные изменения иммунного статуса больных НМРЛ. При медиане последующего наблюдения 18,5 мес. 1-летняя DFS составила 85 %, 2-летняя DFS – 75 %.

Выводы. Опыт клинического применения иХИТ с использованием рИЛ-2 показал ее удовлетворительную переносимость и позитивное влияние на иммунный статус радикально оперированных больных. Результаты DFS свидетельствуют о перспективности дальнейшего применения и изучения эффективности иХИТ, как компонента комплексной терапии ранних стадий НМРЛ.

А.В. Ланцова, М.А. Барышникова, Е.В. Санарова, Н.А. Оборотова, А.П. Полозкова

ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В СИСТЕМЕ IN VITRO НАНОСТРУКТУРИРОВАННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ЛИЗОМУСТИНА

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН», Москва

Разработанная в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН лекарственная форма «Лизомустин лиофилизат для приготовления раствора для инфузий 100 мг», в I-ой и II-ой фазе клинических испытаний продемонстрировала эффективность у больных меланомой и немелкоклеточным раком легкого. Однако недостатком данной лекарственной формы является низкая избирательность действия на опухолевые клетки и, как следствие, общая токсичность. Для решения этой проблемы была создана новая наноструктурированная лекарственная форма (НЛФ) лизомустина в виде стерически стабилизированных липосом.

Цель исследования. Сравнить цитотоксическое действие двух лекарственных форм препарата «Лизомустин – лиофилизат для приготовления раствора для инфузий 100 мг» и НЛФ лизомустина на культурах опухолевых клеток с помощью МТТ-теста.

Материалы и методы. Для постановки МТТ-теста клетки линии Mel Kog (диссеминированная меланома кожи) раскапывали в концентрации 4×10^4 клеток/мл, а клетки линии Jurkat (Т-клеточный лимфобластный лейкоз) в концентрации 25×10^4 клеток/мл в 180 мкл полной среды RPMI-1640 в 96-луночные плоскодонные планшеты (Costar, USA). Лекарственные формы лизомустина исследовали в дозах 0,025 мг/мл, 0,05 мг/мл, 0,1 мг/мл, 0,25 мг/мл, 0,5 мг/мл и 1 мг/мл, инкубировали с клетками в течение 24, 48 и 72 ч в 5% CO₂-инкубаторе при 37°C. Цитотоксический эффект обратно пропорционален числу выживших клеток.

Результаты. Максимальный цитотоксический эффект для лизомустина наблюдался на клеточной линии Jurkat при 72 ч инкубации с самой высокой дозой препарата 1 мг/мл и составил 96 % для «Лизомустин лиофилизат для приготовления раствора для инфузий 100 мг» и 93 % для НЛФ лизомустина. На клеточной линии Mel Kog максимальный цитотоксический эффект наблюдался при инкубации 72 ч с дозой 1 мг/мл и составил 92 % для «Лизомустин лиофилизат для приготовления раствора для инфузий 100 мг» и 88 % для НЛФ.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют о том, что лизомустин в обеих лекарственных формах показал высокий цитотоксический эффект на культурах опухолевых клеток Mel Kog и Jurkat. Однако цитотоксический эффект НЛФ лизомустина был ниже на 3–4 %, что свидетельствует о том, что инкапсулированный в липосомы препарат постепенно (в течение до 90 ч.) высвобождается из везикул и цитотоксическое действие его на клетки замедленно. Этот факт доказывает теорию пролонгированного действия стерически стабилизированных липосом.

А.В. Ланцова, Н.С. Сапрыкина, Е.В. Санарова, Н.А. Оборотова

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ НАНОСТРУКТУРИРОВАННОЙ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ ЛИЗОМУСТИНА IN VIVO

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Для углубленного доклинического изучения в ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН разработана наноструктурированная липосомальная форма лизомустина (НЛФ), с помощью которой удалось повысить биодоступность, расширить диапазон терапевтических доз с эффектом 100% излечения без проявления токсичности препарата на экспериментальной модели опухолевого роста лимфобластном лейкозе и карциноме легкого Льюиса.

Цель исследования. Оценить противоопухолевую активность НЛФ лизомустина на экспериментальной модели опухолевого роста лимфоцитарной лейкемии Р-388.

Материалы и методы. Определение противоопухолевой активности НЛФ лизомустина проводили на экспериментальной модели опухолевого роста лимфоцитарной лейкемии Р-388, которую перевивали внутрибрюшинно по 10^6 опухолевых клеток. Лечение начинали через 24 ч после трансплантации опухоли. Препарат вводили внутрибрюшинно, внутривенно в хвостовую вену и в синус глаза, однократно, в дозах от 175 до 350 мг/кг. Терапевтический эффект оценивали по увеличению продолжительности жизни животных по отношению к контрольной группе и излечению животных. Сравнение проводили с ретроспективными данными для лекарственной формы «Лизомустин лиофилизат для приготовления раствора для инфузий 100 мг».

Результаты. Наиболее эффективным оказался внутрибрюшинный, однократный путь введения, при котором в дозах 200 и 300 мг/кг наблюдали 100 % излечение животных. При внутривенном однократном (хвостовая вена) введении высокий противоопухолевый эффект в виде 72 и 86 % излечения животных наблюдали в максимально переносимых дозах 300 и 350 мг/кг. Ранее проведенные исследования Перетолчиной Н.М. (Экспериментальная онкология на рубеже веков. Под редакцией М.И. Давыдова, А.Ю. Барышниковой) по изучению противоопухолевой активности лекарственной формы «Лизомустин лиофилизат для приготовления раствора для инфузий 100 мг» на лимфоцитарной лейкемии Р-388, показали лишь 40–50% излечение животных при внутрибрюшинном однократном введении в дозах 175 и 200 мг/кг.

Выводы. Полученные результаты доказали высокую противоопухолевую активность НЛФ лизомустина на лимфоцитарной лейкемии Р-388 с излечением до 100 % экспериментальных животных.

Работа поддержана грантом президента РФ для молодых ученых кандидатов наук.

И.С. Левачева, М.А. Барышниковна

НАПРАВЛЕННАЯ ДОСТАВКА ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ ЛИПОСОМАМИ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Несмотря на значительные достижения в изучении механизмов пролиферации опухолевых клеток и появление новых противоопухолевых препаратов, за последние не удалось достичь существенного прогресса в эффективности лечения онкологических заболеваний. Относительная неэффективность существующих препаратов обусловлена тремя главными причинами: приобретением опухолевыми клетками устойчивости к терапии.

Терапевтические подходы к совершенствованию химиотерапии рака сфокусированы на разработке новых систем доставки лекарств непосредственно к злокачественной клетке без повреждения нормальной ткани. Одним из подходов к улучшению противоопухолевой терапии является совершенствование лекарственной формы уже известных хорошо зарекомендовавших себя препаратов. С этой целью в течение последних лет используются липосомы как фармацевтические носители противоопухолевых препаратов. Липосомальная лекарственная форма препарата модифицирует фармакокинетику и фармакоцинетическую, снижает токсичность и усиливает терапевтический эффект.

Новое поколение липосом связано развитием метода присоединения специфических лигандов к концу полиэтиленгликоля (ПЭГ). Благодаря этому методу стало возможным селективно доставлять препарат непосредственно к опухолевой клетке, т.е. сделать любой препарат таргетным. В качестве лигандов используют моноклональные антитела, одноцепочные антитела, пенетрирующие в клетку пептиды, белки, малые молекулы. Иммунолипосомы несут больше молекул лекарства, чем моноклональные антитела, конъюгированные с препаратом. Это повышает терапевтическую эффективность, снижает побочные эффекты, ассоциированные с антителами, и уменьшает стоимость лечения.

Н.Ю. Леканова¹, И.В. Балалаева¹, Л.Г. Клапичина², С.А. Лермонтова^{1,2}, М.В. Ширманова¹

РАЗРАБОТКА НОВОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ И ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ НА ОСНОВЕ БИОСОВМЕСТИМЫХ ПОЛИМЕРНЫХ НАНОЧАСТИЦ, ДОПИРОВАННЫХ ПОРФИРАЗИНОМ ИТТЕРБИЯ

¹Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород

²Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН, Нижний Новгород

В настоящее время в мире ведется активный поиск новых фотосенсибилизаторов с целью повышения эффективности флуоресцентной диагностики и фотодинамической терапии. **Задача исследования.** Оценка флуоресцентных и функциональных свойств нового потенциального фотосенсибилизатора на основе биосовместимых полимерных наночастиц, допированных порфиразином иттербия.

Материалы и методы. Исследованы свойства потенциальных фотосенсибилизаторов – полимерных наночастиц, допированных порфиразином иттербия. Получены стабильные биосовместимые наноразмерные частицы на основе различных полимерных материалов и изучены их оптические свойства в водном растворе и в биоподобных жидкостях. Проведены исследования на клеточных культурах методом конфокальной лазерной сканирующей микроскопии. Исследована селективность накопления комплекса в опухолях в экспериментах *in vivo* методом просветного флуоресцентного имиджинга.

Результаты и выводы. Показано, что водорастворимые биосовместимые полимерные наночастицы, допированные порфиразином иттербия обладают высоким коэффициентом поглощения и сильной люминесценцией в области «окна прозрачности» биотканей. Продемонстрирована способность комплекса к генерации синглетного кислорода при облучении. Эксперименты *in vitro* на клеточных культурах показали проникновение и аккумуляцию частиц в опухолевых клетках. При внутривенном введении наночастиц лабораторным животным показано их накопление в опухолевых тканях, однако, зарегистрировано накопление частиц и в других органах. Предположительно, повышение специфичности накопления может быть достигнуто путем подбора оптимального размера и химического состава полимерных частиц. Таким образом, биосовместимые полимерные наночастицы, допированные порфиразином иттербия по оптическим свойствам и особенностям взаимодействия с биологическими объектами, представляют интерес в качестве потенциальных фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии и/или в качестве флуоресцентных маркеров.

К.В. Лобанов¹, Р.С. Шакулов¹, С.В. Яроцкий¹, В.А. Глазунова², З.С. Смирнова², А.А. Штиль², А.С. Миронов¹

БИОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АКАДЕЗИН – ОСНОВА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПЕРСПЕКТИВНОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА

¹ФГУП «ГосНИИгенетика», Москва

²ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Акадезин (5-аминоимидазол-4-карбоксамид рибофуранозид; АИКАР) – природное нуклеозидное соединение, предшественник инозинмонофосфата. Акадезин усиливает функцию АМФ-активируемой протеинкиназы (АМПК) – ключевого фермента энергетического метаболизма. Активированная акадезином АМПК инициирует фосфорилирование белков, в результате чего подавляется пролиферация и индуцируется гибель опухолевых клеток. В рамках ФЦП «ФАРМА 2020» (ГК № 16.N08.12.1010) акадезин проходит доклинические исследования и рассматривается как основа для создания перспективного препарата для терапии солидных опухолей и В-клеточных гемобластозов.

Задачи исследования. Конструирование рекомбинантного продуцента *Bacillus subtilis* и разработка способа получения биосинтетической субстанции акадезина.

Материалы и методы. Манипуляции с ДНК осуществлялись с использованием стандартных методов геной инженерии и молекулярной биологии. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили на приборе MyCycler (BioRad). Сайт-направленный мутагенез осуществляли с помощью ПЦР с использованием специфических праймеров («Евроген»). Концентрацию акадезина в культуральной жидкости (КЖ) определяли методом количественной тонкослойной хроматографии на пластинках Сорбфил («Ленхром»). Очистку и выделение акадезина проводили с помощью ионного обмена и кристаллизации. Цитотоксичность акадезина оценивали в МТТ-тесте.

Результаты и выводы. Осуществлена реконструкция пуринового метаболизма в клетках штамма *B. subtilis*, направленная на сверхпродукцию акадезина. Полученный в результате генетических манипуляций штамм *B. subtilis* накапливает 11 – 13 г/л акадезина в КЖ. Разработан способ выделения и очистки акадезина. Чистота получаемой субстанции акадезина ≥98 % (ВЭЖХ). Показано, что биосинтетический акадезин вызывает гибель линий опухолевых клеток различного видового (человек, мышь) и тканевого происхождения в тех же концентрациях, что и синтетический препарат сравнения. Таким образом, открывается возможность использования высокоактивного акадезина в количестве, требуемом для исследований *in vivo*.

Т.А. Маньчева, Д.В. Демидов, П.М. Канаев, Н.А. Плотникова, С.П. Кемайкин
**ДИНАМИКА МОРФОГЕНЕЗА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ НЕОПЛАЗИЙ
ПРИ КОРРЕКЦИИ МЕЛАТОНИНОМ И МЕТФОРМИНОМ**

ФГБОУ ВПО «Мордовский госуниверситет им. Н.П. Огарева», Саранск

К числу наиболее значимых направлений современной медицины относятся исследования закономерностей канцерогенеза и возможной фармакологической коррекции развития злокачественных новообразований.

Задачи исследования. Изучение процессов морфогенеза опухолевой ткани при использовании мелатонина и метформина в условиях экспериментальных неоплазий, индуцированных бенз(а)пиреном.

Материалы и методы. Эксперимент проведен на 200 самках нелинейных белых мышей которые были поделены на три группы по 50 мышей, оставшиеся 50 мышей (4-я группа) служили интактным контролем. Моделировали индуцированный бенз(а)пиреном опухолевый рост кожи, с коррекцией в экспериментальных группах мелатонином и метформином.

Результаты. В эксперименте у мышей контрольной группы формировались опухолевые узелки В экспериментальных группах введение мелатонина и метформина не привело к статистически значимому изменению времени появления первого опухолевого узла и составило в среднем 86 суток. При морфологическом исследовании опухолевых узлов в группе контроля по канцерогенезу развивался плоскоклеточный рак кожи, представленный атипичными, полиморфными, гиперхромными опухолевыми клетками разной степени дифференцировки. В подавляющем большинстве случаев выявлялся плоскоклеточный ороговевающий рак с формированием специфических «раковых жемчужин». В центральной части опухолевых пролифератов вторичные изменения. В отдельных случаях была выявлена морфологическая картина плоскоклеточного неороговевающего рака кожи. В легочной ткани мышей обнаруживались множественные метастатические узлы. При изучении патогистологической структуры индуцированных бенз(а)пиреном опухолей кожи у мышей на фоне коррекции мелатонином и метформином не встречались случаи плоскоклеточного неороговевающего рака, с единичными метастазами.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют о снижении темпов опухолевой прогрессии на фоне применения мелатонина и метформина.

*А.В. Мелешина¹, Е.И. Черкасова¹, Е.А. Сергеева², Е.В. Киселева³, Э.Б. Даширмаев³,
М.В. Ширманова¹, Е.В. Загайнова¹*

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ОПУХОЛИ И СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАРКИРОВАНИЯ
И ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БИОИМИДЖИНГА**

¹*Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород*

²*Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород*

³*Институт биологии развития им. Н.К. Колымова РАН, Москва*

В настоящее время активно обсуждаются возможные механизмы участия стволовых клеток мезенхимального происхождения в туморогенезе: при модулировании иммунного ответа организма, в создании ниши для поддержания роста и жизнедеятельности опухолевых клеток, в ангиогенезе опухоли и в образовании метастазов. В данной работе исследована модель «реципиент-опухоль-стволовые клетки», с использованием мышей линий D2xJ (nude), клеточной культуры опухоли (Hela kyoto) и стволовых клеток стромы жировой ткани человека (СКЖТ), генетически меченых красным флуоресцентным белком Turbo FR635. Для идентификации селективности накопления и анализа распределения в организме реципиента флуоресцентно меченых клеток использовались методы флуоресцентного поверхностного прижизненного имиджинга и лазерной сканирующей флуоресцентной микроскопии. Методом биоимиджинга *in vivo* в группах животных с комплексным введением стволовых клеток была детектирована флуоресценция в области селезенки на 5 – 9 день после инъекции меченых СКЖТ, которая сохранялась до 10 – 14 сут. В группе с локальным введением стволовых клеток (в область опухоли) мест их локализации выявлено не было. Для верификации распределения и выявления ниш стволовых клеток в тканях животного была применена лазерная сканирующая конфокальная микроскопия (Axiovert 200M LSM 510 META (Carl Zeiss), Германия). Для идентификации экзогенной флуоресценции белка Turbo FR635 регистрировали спектральные данные с 12 внутренних органов и опухолевой ткани реципиента. Скопления клеток со спектральными характеристиками, соответствующими флуоресцентному белку Turbo FR635 обнаружены в опухолевой ткани и костном мозге животных при локальном введении меченых СКЖТ, а также в легких при их системном введении. Полученные данные позволяют сделать вывод, что СКЖТ при системном введении интегрируют в селезенку и могут быть детектированы прижизненным имиджингом, а при системном и местном - в селезенку, костный мозг, легкие, опухолевые ткани реципиента и детектируется методом конфокальной лазерной сканирующей микроскопии.

*И.Б. Меркулова, Т.В. Абрамова, Н.Ю. Кульбачевская, О.И. Коняева,
Н.П. Ермакова, А.С. Кузнецова, В.М. Бухман*

**ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ КРЫС
ПРИ 3-КРАТНОМ ВНУТРИВЕННОМ ПРИМЕНЕНИИ ТИОСЕНСА В ЛИПОСОМАХ**

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Тиосенс в лиофилизированной липосомальной лекарственной форме (ЛЛЛФТ), разработанной в РОНЦ, проходит доклиническое исследование безопасности его применения в фотодинамической терапии опухолей. **Цель исследования.** Патоморфологическая оценка внутренних органов крыс на 3 и 30 сутки после 3-кратного ежедневного внутривенного применения ЛЛЛФТ. **Материалы и методы.** Использовано 40 неинбредных крыс-самцов. ЛЛЛФТ в суммарных дозах 9 и 27 мг/кг (разовые дозы – 3 и 9 мг/кг соответственно) вводили крысам в вену хвоста ежедневно 3-кратно. Контроль – «пустые» липосомы в том же режиме по максимальному объему и интактные животные. Крыс умерщвляли диэтиловым эфиром. На вскрытии проводили макроскопическое исследование внутренних органов. Участки внутренних органов подвергали общепринятой гистологической обработке с окраской срезов гематоксилином и эозином. Микропрепараты изучали в световом микроскопе при увеличении 100, 400, 1000. **Результаты.** У крыс, получивших ЛЛЛФТ в суммарных дозах 9 и 27 мг/кг не выявлено существенных патологических изменений в головном мозге, сердце, легких, печени, почках, желудочно-кишечном тракте, тимусе, селезенке, лимфатических узлах, костном мозге, надпочечниках, поджелудочной железе, щитовидной железе, семенниках и мочевом пузыре по сравнению с внутренними органами крыс, получивших «пустые» липосомы. Однако, как после применения «пустых» липосом, так и особенно после применения ЛЛЛФТ в обеих дозах в сердце и почках у отдельных крыс отмечены несильно выраженные дистрофические и деструктивные изменения, а также морфологические особенности активирующего характера в селезенке и лимфатических узлах, а также в клетках РЭС печени как на 3, так и на 30 сутки после окончания применения ЛЛЛФТ. После применения ЛЛЛФТ отмечено дозозависимое поверхностное окрашивание печени, лимфатических узлов, селезенки в зеленый цвет, хотя при гистологическом исследовании частицы тиосенса не обнаружены ни внутри клеток, ни в межклеточных пространствах. **Выводы.** ЛЛЛФТ у отдельных крыс вызывает независимые от дозы изменения в сердце и печени, оказывает активирующее действие на лимфопролиферативные органы, что, скорее всего, связано с особенностями лекарственной формы (липосомы).

*И.Б. Меркулова, Т.В. Абрамова, О.И. Коняева, Н.Ю. Кульбачевская,
Н.П. Ермакова, А.С. Кузнецова, В.М. Бухман*

**ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ КРЫС
ПРИ 3-КРАТНОМ ПЕРОРАЛЬНОМ ПРИМЕНЕНИИ ЦИФЕТРЕЛИНА**

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Цифетрелин (ЦФ) – аналог гипоталамического гормона соматостатина, показал высокую противоопухольевую активность в эксперименте на перевиваемых опухолях мышей. ЦФ синтезирован и проходит доклиническое исследование в ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН.

Цель исследования. Патоморфологическое исследование внутренних органов крыс при пероральном 3-кратном применении ЦФ в рамках изучения его безопасности.

Материалы и методы. Опыты проведены на 50 неинбредных крысах-самцах. ЦФ в виде гранулята применяли крысам перорально 3-кратно ежедневно в разовых дозах 50, 5 и 0,5 мг/кг (суммарные дозы – 150, 15 и 1,5 мг/кг соответственно). В качестве растворителя использовали 1% крахмальный клейстер. Контроль – «пустой» гранулят в том же режиме и в максимальном объеме и интактные животные. Крыс умерщвляли диэтиловым эфиром на 1 и 45 сутки после окончания применения ЦФ. На вскрытии проводили макроскопическое исследование внутренних органов, брали участки органов, которые подвергали общепринятой гистологической обработке с окраской срезов гематоксилином и эозином. Микропрепараты изучали под световым микроскопом при увеличениях: 100, 400 и 1000.

Результаты. На 1 сутки после применения ЦФ в суммарной дозе 150 мг/кг в миокарде большинства крыс обнаруживаются очаги ишемии (гиперэозинофилии) кардиомиоцитов с неполной обратимостью к 45 суткам; в печени большинства крыс отмечены очаги мононуклеарной инфильтрации, полностью исчезающие к 45 суткам опыта; в почках имеют место несильно выраженные дистрофические и десквамативные изменения, обратимые к 45 суткам опыта. На 1 сутки после применения ЦФ в суммарной дозе 15 мг/кг отмечены сходные несильно выраженные изменения в сердце, почках и печени лишь у единичных крыс. К 45 суткам изменения в сердце и печени у всех крыс исчезали, а в почках соответствовали контролю (гранулят). На 1 и 45 сутки после применения ЦФ в суммарной дозе 1,5 мг/кг во внутренних органах крыс изменения не обнаружены. После применения ЦФ во всех дозах по сравнению с контролем отмечены более выраженные признаки лимфоидной и ретикуло-плазмочитарной гиперплазии в лимфопролиферативных органах – селезенке и брыжеечных лимфатических узлах.

Выводы. 3-кратное пероральное применение ЦФ в высокой дозе –150 мг/кг у крыс вызывает несильно выраженные обратимые изменения в сердце, почках и печени.

А.Ф. Миронов¹, В.Д. Румянцева¹, А.В. Иванов², Н.Г. Хлебцов³, И.П. Шилов⁴

ИТТЕРБИЕВЫЕ КОМПЛЕКСЫ ПОРФИРИНОВ И ИХ КОНЬЮГАТЫ С НАНОЧАСТИЦАМИ ДЛЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ ОПУХОЛЕЙ

¹Московский ГУТХТ им. М.В. Ломоносова, Москва;

²ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

³Саратовский государственный университет им. Чернышевского, Саратов

⁴Институт радиотехники и электроники РАН, Фрязино

Успешная борьба с раковыми заболеваниями в значительной мере зависит от возможного более раннего обнаружения опухоли. Одним из перспективных направлений в этой области является флуоресцентная диагностика с использованием иттербиевых (Yb)-комплексов порфиринов. Они обладают интенсивной люминесценцией, хорошо накапливаются в опухоли, практически не генерируют синглетный кислород и его другие активные формы при облучении. Отсутствие фототоксичности является важным преимуществом Yb-комплексов по сравнению с обычно используемыми фотосенсибилизаторами в ФДТ, поскольку не приводит в данном случае к нежелательному разрушению тканей. Нами осуществлен синтез большой группы иттербиевых комплексов природных и синтетических порфиринов и изучены их физико-химические и биологические свойства. Природные порфирины получены на основе доступного гемина крови, а синтетические производные – с использованием одностадийной монопиррольной конденсации. Введение иттербия протекает с высоким выходом. Синтезированные Yb-комплексы являются устойчивыми соединениями и могут храниться долгое время без разложения. Наиболее эффективным фотосенсибилизатором среди исследованных соединений оказался 2,4-диметоксигематопорфирин IX (Yb-ФС). Он имеет низкую токсичность, хорошо накапливается в опухоли и интенсивно флуоресцирует в диапазоне 975 – 985 нм, где собственная люминесценция биотканей является минимальной. Его дикалиевая соль хорошо растворима в воде. Данные по кинетике накопления и выведения на мышцах-самках линии Bulb/c с привитой опухолью Льюиса свидетельствуют о преимущественном накоплении препарата в опухоли через 48 ч после его введения в организм животных. Селективность Yb-ФС достигала 16. Показано, что время жизни люминесценции в растворе составляет 8 – 10 мкс и его можно детектировать при концентрациях 10^{-11} М. Получены композитные золото-серебряные наночастицы, покрытые мезопористой оболочкой из двуокиси кремния и функционализированные Yb-ФС (около 1500 молекул на частицу). Сравнение биораспределения и люминесценции Yb-ФС и его конъюгата с наночастицами на мышцах с привитой карциномой Эрлиха позволило обнаружить существенное увеличение накопления в опухоли конъюгата по сравнению с исходным Yb-ФС.

Е.В. Моисеева¹, Н.Р. Кузнецова¹, Н.С. Ситников², Г.В. Пазынина¹, А.Ю. Федоров², Е.Л. Водовозова¹

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ЭФФЕКТ НАНОРАЗМЕРНЫХ ЛИПОСОМ

С ЛИПОФИЛЬНЫМ ПРОЛЕКАРСТВОМ КОМБРЕТАСТАТИНА А4

НА МЫШИНОЙ МОДЕЛИ ОСТРОГО Т-ЛИМФОЛЕЙКОЗА

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

²Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород

Задачи исследования. Антимитотический агент комбретастигин А4 (СА-4) в виде водорастворимого фосфата (СА4Р) недавно одобрен в качестве антивазкулярного противоопухолевого средства для многократного введения после курса лучевой терапии. В данной работе получены липосомы, нагруженные липофильным пролекарством СА-4 и несущие углеводный лиганд селективных SiaLe^X. Исследован противоопухолевый эффект на модели острого Т-лимфолейкоза мышей ASF-LL; экспрессия селективных на клетках лимфомы подтверждена ранее с помощью иммунофенотипирования при цитометрии. **Материалы и методы.** Экструзионные 100-нм-липосомы состава яичный фосфатидилхолин / фосфатидилинозит из дрожжей / олеоильный эфир СА-4 (СА4-Ole) / +-диглицеридный конъюгат SiaLe^X, 75:10:15:1 (мол.), получены на установке Lipex (Канада) при 20°C. Для сравнительных испытаний получали мицеллярную форму водонерастворимого СА-4 с фармакопейным детергентом Твин 80 (5% в буфере). Концентрация по СА-4: 22 мг/кг = 70 мкмоль/кг (принятая в клинике дозировка СА4Р: 81 мг/кг = 184 мкмоль/кг). Препараты (0,2 мл) вводили в в.с. самкам ASF-LL (n=8 в каждой группе) через сутки после инокуляции клеток лимфомы, 6 раз с интервалом в 2-3 дня. **Результаты.** В используемых дозировке и протоколе введения СА-4 не показал достоверного ингибирования роста лимфомы и регионарных подмышечных лимфоузлов. Группы, пролеченные препаратами липосом достоверно (p << 0.04) отличались от контроля, начиная с 12 дня, но не различались между собой. Средний размер лимфоузлов у мышей, получавших липосомы, не превысил нормы (1.5-2 мм). К 21 дню был обнаружен только один показатель преимущества SiaLe^X-липосом: доля мышей с пораженными лимфоузлами была наименьшей – 25 %, против 50, 63 и 80% в группах, получавших безадресные липосомы с СА4-Ole, СА-4 и PBS–5% Твин 80, соответственно. К 43 дню выживаемость в группах (в том же порядке): 90, 90, 50 и 25 %. **Выводы.** 1) Препараты липосом с СА4-Ole, в отличие от интактного СА-4, показали достоверное противоопухолевое действие в режиме монотерапии. 2) Выраженный эффект адресной доставки может быть получен при введении в состав липосом более 1 мол. % конъюгата SiaLe^X.

Работа поддержана грантом РФФИ № 10-04-01021.

Н.А. Наволокин¹, Н.В. Полуконова¹, Г.Н. Маслякова¹, А.Б. Бучарская¹, В.С. Тырнов²

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНАХ И ОПУХОЛИ КРЫС С ПЕРЕВИТЫМ РАКОМ ПЕЧЕНИ РС-1 ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ ЭКСТРАКТА ПУРПУРНОЙ КУКУРУЗЫ (*ZEA MAYS* L.)

¹Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, Саратов

²Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов

Задачи исследования. В экспериментах *in vivo* изучить изменения внутренних органов, опухоли и крови белых лабораторных крыс с перевиваемым раком печени РС-1 при пероральном ведении экстракта кукурузы пурпурной (*Zea mays*).

Материалы и методы. Самцы лабораторных крыс массой 150±50 гр, в количестве 20 штук с имплантированной подкожно в область лопатки по 0,5 мл 25 % опухолевой взвеси в растворе Хэнкса штамма альвеолярного рака печени – РС-1. Штаммы перевиваемых опухолей получены из банка опухолевых штаммов РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. По достижении опухоли 1±0,2 см в диаметре животные методом случайной выборки были разделены на опытную и контрольную группы (по 10 крыс). В опытной группе крысам перорально вводили водный раствор сухого экстракта кукурузы один раз в двое суток в течение трех недель с момента перевития опухоли.

Результаты. В лейкоцитарной формуле животных, получавших флавоноидсодержащий экстракт кукурузы, по сравнению с контролем достоверно увеличивалось количество лимфоцитов на 46 %, что может свидетельствовать о возможной стимуляции специфического звена иммунитета. Индекс эндогенной интоксикации Каль-Калифа (Рейс и др., 2009 г.) составил 1,02 – в опытной группе и 2,58 – в контрольной группе, где интоксикация была обусловлена ростом опухоли, при введении экстракта интоксикация снижается в 2,5 раза по сравнению с контролем, что свидетельствовало об общем благоприятном влиянии экстракта на состояние животных. При гистологической оценке в головном мозге, сердце, легких, почках, селезенке, желудочно-кишечном тракте не было выявлено изменений, в печени отмечалась умеренная зональная дистрофия гепатоцитов, в опухоли обнаруживались обширные поля некроза. При оценке динамики роста опухоли в экспериментальной группе отмечалось увеличение её размера, по сравнению с контрольной. Но известно, что сам экстракт канцерогенным действием не обладает (Полуконова и др., 2010).

Выводы. Таким образом, установлены низкая токсичность экстракта, увеличение относительного количества лимфоцитов и увеличение роста опухоли. Полученные данные не позволяют сделать однозначного вывода и требуют дальнейшего изучения флавоноидсодержащего экстракта кукурузы на экспериментальных моделях.

Г.В. Николаева¹, Г.В. Пономарев², В.М. Муравьев³, Н.В. Филатова¹

РАЗРАБОТКА СВЕТОДИОДНЫХ УСТАНОВОК ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

¹РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва

²НИИ биомедицинской химии, Москва

³ООО «Панковмедикл», Москва

Наиболее перспективным препаратом для фотодинамической терапии на сегодняшний день является фотосенсибилизатор хлоринового ряда хлорин Е6. Установлено, что он обладает низкой общей токсичностью для организма, избирательно накапливается в клетках с высокой митотической активностью: эндотелии новообразованных сосудов, непосредственно в опухолевых клетках; проявляет высокую фотохимическую активность при облучении лазерным излучением и в течение 24 ч выводится из организма. Для возбуждения фотосенсибилизаторов обычно используются лазерные системы. Преимущество источников световой энергии с использованием светодиодной матрицы – простота в использовании, низкая стоимость, портативность, безопасность для пациента и персонала.

Цель исследования. Предложить новые светодиодные установки для фотодинамической терапии переднего отрезка глаз.

Материалы и методы. Светодиодные излучатели АФС спектр выполнены на основе светодиодов повышенной яркости. Полная мощность оптического излучения системы составляет не менее 1,0 Вт (максимальная 50 Вт), плотность мощности не менее 1,0 Вт/см² на расстоянии 1 см от поверхности излучателя. Длина волны излучения: 400 нм, 630 нм или 660 нм. Мы использовали установку с длиной волны 400 нм. Аппарат применен в экспериментальном исследовании (терапия неоваскуляризации роговицы кроликов) и в клинической практике (терапия неоваскуляризации роговицы у детей различного возраста).

Результаты. В электронном спектре поглощения хлорина Е6 наблюдаются пять характеристических полос поглощения с максимумами при длинах волн 401, 504, 536, 600 и 654 нм, причем более выражены полосы поглощения при 401 и 654 нм. Это позволило нам применить для ФДТ неоваскулярных процессов переднего отрезка глаза светодиодный источник с длиной волны 400 нм. Считается, что в офтальмологии нежелательно применение излучения коротковолнового спектра. Но результаты гистологического исследования структур глаза кролика после воздействия светодиодного синего осветителя показали, что доза лазерного облучения до 150 Дж/см² не оказывает повреждающего действия на ткани глаза. Получены данные о высокой эффективности применения этого источника света в клинике. Через месяц после сеанса терапии отмечена полная облитерация новообразованных сосудов роговицы, уменьшение плотности помутнений роговицы и полное исчезновение малоинтенсивных помутнений.

*Л.М. Обухова, А.В. Алясова, К.Н. Конторщикова, И.Г. Терентьев,
А.И. Сазанов, Т.Н. Горшкова, О.Н. Никифорова*

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ И КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ОЗОНОМ И ДОКСОРУБИЦИНОМ

Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород

Задачи. Анализ возможности использования метода клиновидной дегидратации плазмы крови для диагностики эпителиальных злокачественных опухолей на начальной стадии заболевания и для оценки эффективности озонотерапии как отдельно, так и в комбинации с использованием доксорубина.

Материалы и методы. Экспериментальная модель канцерогенеза осуществлена на нелинейных крысах-самках (60 особей). Лечебными препаратами служили доксорубин; озонированный физиологический раствор; их комбинация. Элементный анализ плазмы крови проводили методом атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Морфологическую структуру плазмы крови оценивали методом клиновидной дегидратации (В.Н. Шабалин, С.Н. Шатохина, 1996). Исследована плазма крови 62 онкологических больных (38 – 64 лет). Контрольная группа – 11 практически здоровых лиц. В плазме крови определяли: общий белок и белковые фракции, иммуноглобулины, мочевину, креатинин, холестерин, билирубин и их фракции, глюкозу, K^{+} , Na^{+} , Cl^{-} , бикарбонаты.

Результаты. При исследовании плазмы крови методом клиновидной дегидратации обнаружены специфические морфологические онкомаркеры: У-образные микротрещины в краевой зоне и кристаллы в виде зерен в центральной зоне фации. Появление маркеров в виде микротрещин обусловлено нарушением конформации белков плазмы крови под действием характерных для канцерогенеза продуктов метаболизма. Изменение характера кристаллов в центральной зоне фации плазмы крови вызвано изменением минерального обмена при онкологии. Продемонстрировано потенцирующее действие озонированного физиологического раствора при комбинированной терапии доксорубицином, проявляющееся в нормализации минерального и белкового гомеостаза плазмы крови и увеличением эффективности деструкции малигнизированных клеток.

Выводы. Метод клиновидной дегидратации может быть использован для выявления нарушения белкового и минерального обменов плазмы крови, имеющих место на начальных стадиях канцерогенеза, а также для достоверной оценки эффективности проводимой терапии.

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ЭФФЕКТ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ КОНТАКТНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

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

²Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

³ФГУП «ГМЦ «НИОПИК», Москва

Задачи исследования. Ранее в работах ряда авторов (А.Л. Николаев, Е.М. Трещалина и др.) была установлена противоопухолевая активность ультразвукового (УЗ) воздействия и способность УЗ усиливать эффект ряда цитостатиков. Терапевтическая активность данного метода была показана в условиях двухчасового локального гипертермического УЗ воздействия в водной контактной среде. Задача предпринятых нами исследований состояла в экспериментальной оценке эффективности ультразвуковой гипертермии в гелевой контактной среде (контактная УЗ гипертермия) в условиях, максимально приближенных к требованиям последующих клинических испытаний.

Материалы и методы. Экспериментальными тест-системами служили солидные опухоли мышей – карцинома легких Льюис, аденокарцинома Са-755 (мыши BDF₁), аденокарцинома Акатол (мыши BALB/c), перевиваемые подкожно. Контактная УЗ гипертермия проводилась на наркотизированных животных при частоте и электрической мощности излучения, равных 2,64 МГц и 2,52 Вт, с использованием защитного устройства – концентратора периферийного излучения. Цитостатик абитаксел (лаборатория «Хемепе», Аргентина), вводился в дозе 50 мг/кг в/б однократно за 1 ч до проведения сеанса УЗ гипертермии. Противоопухолевый эффект терапии оценивался при сопоставлении кинетики развития опухолей в группах леченных и контрольных животных. Показателем ростигибирующей активности воздействий служил коэффициент торможения роста опухоли (ТРО %).

Результаты. Установлено, что контактная УЗ гипертермия обладает весьма существенным противоопухолевым эффектом, выражающимся в ингибировании развития солидных опухолей мышей – аденокарцинома Са-755 и карцинома Льюис – на 70 – 80 % по сравнению с контролем. Комплексное использование ультразвука и абитаксела приводит к существенному повышению активности терапии, которое выражается в увеличении показателя торможения роста опухоли ТРО с 5 % до 75 % по сравнению с контролем (аденокарцинома Акатол).

Выводы. Контактная УЗ гипертермия обладает существенным противоопухолевым эффектом и способностью повышать чувствительность исходно рефрактерной опухоли к действию цитостатика.

И.М. Пархоменко¹, А.С. Мамонтов², Е.Ф. Странадо³, Т.Д. Есакова¹, Л.С. Абрамова⁴

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАНОЗАЖИВЛЯЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ МИДИЙНОГО ГИДРОЛИЗАТА МИГИ-К В ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ КЛИНИКЕ

¹Биологический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва

²МНИОИ им П.А. Герцена, Москва

³ГНЦ лазерной медицины, Москва

⁴ФГУП ВНИРО, Москва

Одной из важных проблем, возникающих в онкологической клинике, как при хирургических операциях, так и при ФДТ, является заживление ран, в том числе гнойных ран и пневмоний. Наш опыт изучения мидийного гидролизата МИГИ-К позволяет рекомендовать его в качестве эффективного ранозаживляющего средства.

МИГИ-К – кислотный гидролизат из мидий, разработанный во ФГУП ВНИРО (ВНИИ рыбного хозяйства и океанографии), нетоксичен и эффективен при применении внутрь, обладает противолучевым, иммуномодулирующим и адаптогенным действием, допущен к применению в качестве пищевого продукта лечебно-профилактического назначения и лекарственного средства (Санитарно-эпидемиологическое заключение № 77.99.11.002.Т.001551.08.04 от 31.08.04).

МИГИ-К был использован в отделении пищевода онкологии МНИОИ им. П.А.Герцена с целью сокращения сроков лечения и уменьшения осложнений послеоперационной терапии у больных, перенесших химио- и/или радиационное воздействие. Все больные лечились строго в соответствии с разработанными в Институте методами комбинированного лечения рака пищевода. При гнойных осложнениях контрольная группа больных получала массивную антибиотикотерапию и общеукрепляющую терапию в сочетании с питательными смесями, а вторая - такую же массивную антибиотикотерапию и общеукрепляющую терапию в сочетании с МИГИ-К. Оценивали повышение эффективности лечения и излечение гнойного осложнения (последнее по таким клинико-лабораторным показателям как исчезновение гнойного отделяемого из раны, развитие активных грануляций, начало эпителизации краев раны, уменьшение палочкоядерного нейтрофильного сдвига и сдвига лейкоцитарной формулы крови влево, снижение и нормализация СОЭ, исчезновение или уменьшение воспалительных изменений в слизистой бронхов в случае трахеобронхита). Применение МИГИ-К сокращало сроки излечения и приводило к упрощению способа лечения. Ускорение заживления ран наблюдали также при использовании МИГИ-К после фотодинамической терапии злокачественных опухолей кожи и слизистых оболочек в ГНЦ лазерной медицины.

Л.А. Пашева¹, Н.Б. Преснякова², В.В. Королёва², В.В. Новиков^{2,3}

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ РАСТВОРИМЫХ ФОРМ CD38 И HLA-DR В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ДЕТЕЙ

С РАЗЛИЧНЫМИ ИММУНОВАРИАНТАМИ ОСТРОГО ЛЕЙКОЗА

¹НОДКБ, Нижний Новгород

²ННИИЭМ им. И.Н.Блохиной, Нижний Новгород

³ННГУ им. Н.И.Лобачевского, Нижний Новгород

Задачи исследования. Оценка сывороточного содержания растворимых форм (s-форм) прогностически значимых при ряде опухолей системы крови линейно нерестриктированных антигенов HLA-DR и CD38 может стать перспективной для последующей индивидуализации химиотерапевтических режимов при острых лейкозах.

Целью настоящего исследования является сравнительное определение уровня суммарной и олигомерной фракций sCD38 и молекул гистосовместимости sHLA-DR в сыворотке крови детей с разными иммунновариантами острого лейкоза.

Материалы и методы. Использовано 33 образца сыворотки крови детей от 2 до 17 лет с диагнозом острый лейкоз (в том числе 22 с В-линейным острым лимфобластным лейкозом (В-ОЛЛ), 4 с Т-линейным острым лимфобластным лейкозом (Т-ОЛЛ) и 7 с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ), полученные до начала специфического лечения, и 57 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 сывороточного уровня суммарных и олигомерных фракций молекул sCD38 и sHLA-DR у детей с диагнозом В-ОЛЛ и ОМЛ в среднем в 2 раза по сравнению с контрольной группой. У детей с Т-ОЛЛ выявлено статистически значимое повышение содержания указанных фракций sCD38 и HLA-DR в 4,8, 1,7 и 2,3 раза соответственно ($p < 0,05$). Статистически значимые различия между группами пациентов с лейкозом не выявлены. По-видимому, указанные изменения сывороточного уровня CD38 свидетельствуют о нарушениях трансмембранной сигнализации и адгезии клеток иммунной системы при лейкозе, а увеличенное содержание молекул sHLA-DR у детей с лейкозом – результат активационных процессов, связанных с реализацией противоопухолевого Th1-иммунного ответа.

Т.Б. Переверзева, Э.Р. Переверзева, Д.А. Бодягин, С.А. Лакатош, М.Н. Преображенская, И.Д. Трещалин
ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ И ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОГО ТАРГЕТНОГО ПРЕПАРАТА ПИМИНА
 ФГБУ «НИИНА» РАМН, Москва

Задачи исследования. В последние годы проводятся интенсивные исследования серин/треониновой киназы Pim-1, которая является ключевым регулятором ряда сигнальных путей, определяющих развитие опухоли. Гиперэкспрессия Pim-1 была обнаружена при многих онкологических заболеваниях, что позволяет рассматривать ее в качестве новой интересной мишени, имеющей значительный потенциал терапевтического воздействия. Показано, что ингибиторы Pim-1-киназы индуцируют гибель опухолевых клеток, экспрессирующих Pim-1. В ФГБУ «НИИНА» РАМН было синтезировано оригинальное соединение – ингибитор Pim-1-киназы пимин. Задачей настоящего исследования явилось изучение его острой токсичности и противоопухолевой активности.

Материалы и методы. Исследования были проведены на мышах BDF₁(C₅₇Bl x DBA₂) самках, массой 18 – 22 г, полученных из Центрального питомника РАМН «Крюково». При изучении острой токсичности по методу Литчфилда и Уилкоксона 2% раствор пимина в 0,9% NaCl вводили внутривенно в различных дозах. Дозы, характеризующие токсичность, рассчитывали при помощи компьютерной программы «StatPlus 2006». Лимфолейкоз P388 перевивали внутрибрюшинно, меланому B-16 и аденокарциному мышей АК-755 – под кожу бока по 1 млн клеток на мыш. Препарат вводили однократно в/в или в/бр в дозах 100, 150 и 170 мг/кг, пятикратно в/бр ежедневно в дозах 20; 30 и 40 мг/кг или десятикратно в дозах 10 и 20 мг/кг. Введение начинали через 24 часа после перевивки опухоли. Противоопухолевый эффект оценивали по увеличению продолжительности жизни животных (УПЖ%) или по торможению роста опухоли (ТРО%).

Результаты. Расчетные дозы соединения, характеризующие токсичность пимина, составили: ЛД₅₀ = 263 (217÷310) мг/кг; МПД = 179 мг/кг (151÷200). Показано, что однократное введение соединения не вызывает увеличения продолжительности жизни животных с лимфолейкозом P388. При пятикратном применении пимина в разовых дозах 20; 30 и 40 мг/кг УПЖ составило соответственно 25%; 37% и 49%. При введении соединения в дозе 10 мг/кг десятикратно было получено достоверное торможение роста АК 755 на 70%, а меланомы B-16 – на 97%.

Выводы. Полученные токсикологические характеристики пимина и высокая противоопухолевая активность позволяют рассматривать его в качестве перспективного химиотерапевтического агента.

*Е.С. Плеханова¹, Д.В. Новиков¹, А.В. Калугин¹, С.В. Шумилова¹,
 Н. Гуррам¹, Е.Н. Филатова¹, В.В. Новиков¹, А.Ю. Барышников²*

ЭКСПРЕССИЯ РАКОВО-ТЕСТИКУЛЯРНЫХ ГЕНОВ В КЛЕТКАХ ПЕРЕВИВАЕМЫХ ЛИНИЙ

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

²ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Задачи исследования. Транскрипция раково-тестикулярных (РТ) генов наблюдается в семенниках, клетках зародыша и плаценты, иногда в клетках иммунопривилегированных тканей, а также в неопластических клетках. Ограниченная экспрессия РТ генов позволяет использовать их мРНК в качестве маркеров опухолевых клеток при онкологических заболеваниях. Целью настоящего исследования явилась оценка экспрессии РТ генов в перевиваемых клеточных линиях различного происхождения.

Материалы и методы. В работе использовали перевиваемые клеточные линии Colo205, HCT116, HCT15, SW-60, T84, CaCo2 (колоректальный рак), Hep3B, HepG2 (карцинома печени), PC-3M, Du145, LNBurLN3 (рак простаты), MCF-7, T47d, HS578 (рак молочной железы), A549, NCI-H23 (рак легкого), A498, SN12C, CaKi1, ACHN (рак почки), NCI-H78, H9, (лимфомы), Ramos, Daudi (лимфома Беркитта), Jurkat, J937, HL60, CCRF-CEM, K6-1a (лейкемия) и SK-OV-3 (рак яичников). Методом ОТ-ПЦР выявляли мРНК пяти семейств РТ генов: MAGEA1-6, XAGE1, SSX1, 2 и 4, MAGEC1 и TRAG-3.

Результаты и выводы. В клеточных линиях, полученных из опухолей больных колоректальным раком и раком простаты, были обнаружены мРНК всех пяти семейств генов (MAGEA1-6, XAGE1, SSX1,2 и 4, MAGEC1 и TRAG-3). В линиях, имеющих происхождение от опухолевых клеток больных карциномой печени, раком легкого, молочной железы и почки, обнаруживались мРНК генов MAGEA1-6, SSX1,2 и 4, XAGE1 и TRAG-3. Не обнаруживалась мРНК MAGEC1. В клетках линий NCI-H78, H9 (лимфома) обнаруживалась мРНК генов MAGEA1-6, TRAG-3, SSX1,2 и 4, в клетках линии SK-OV-3 (рак яичников) – мРНК MAGEA1-6 и TRAG-3, в клетках линий Ramos, Daudi (лимфома Беркитта) – мРНК MAGEA1-6. Из пяти исследованных лейкозных клеточных линий мРНК РТ генов была обнаружена в клетках CCRF-CEM (мРНК MAGEA1-6), клетках J937 (мРНК XAGE1), клетках линии K6-1a (мРНК MAGEA1-6 и TRAG-3), но не выявлялась в клетках линий Jurkat и HL60. Таким образом, клеточные линии, имеющие разное происхождение, отличаются по набору активных РТ генов.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы и ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России» на 2007-2012 годы.

Н.А. Плужникова, А.Ю. Галкина, Н.Ю. Анисимова, Д.С. Цветков, М.В. Киселевский
**ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ МОЛЕКУЛ ИНТЕГРИНА CD11b
И ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ
В ПЕРИОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ**

ФГБУ «РОИЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Хирургическая операция приводит к изменению числа функциональной активности нейтрофилов/моноцитов. Однако сведения о состоянии фагоцитарной системы в периоперационный период неоднозначны.

Задача исследования. Изучение фенотипа и фагоцитарной активности нейтрофилов в периоперационном периоде у онкологических больных.

Материалы и методы. Исследовали образцы венозной крови 16 больных раком пищевода и желудка II–III ст. без послеоперационных осложнений. Пробы крови отбирались: за сутки до операции (1 точка), интраоперационно (2 точка – после вскрытия брюшной полости, 3 точка – после рассечения стенок желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), 4 точка – после наложения операционных швов) и на 1,3,5-е сутки после операции (5–7 точка). Поглотительную активность нейтрофилов оценивали по ФИ (процент фагоцитирующих нейтрофилов) и ФЧ – среднее количество частиц, захваченных одной клеткой. Для фенотипирования лейкоцитов (нейтрофилов) использовали антитела к CD45, CD66b, и к интегрину CD11b, меченые флуорохромами (Becton Dickinson, USA). Результаты представляли с указанием медианного значения и размаха квартилей (25% – 75%). **Результаты.** Тенденция нарастания фагоцитарной активности нейтрофилов отмечалась сразу после вскрытия брюшной полости. Максимальные значения ФЧ=50 (47–50) ($p<0,05$) гранул латекса отмечали сразу после завершения операции (4 точка) и через 1-е сутки после нее (5 точка) – 50 (30–50) гранул латекса. Максимальная же величина ФИ=77 (70–84) % ($p<0,05$) наблюдалась только через сутки после операции (5 точка). Содержание CD45+CD66b+CD11b+ нейтрофилов в крови также начинала возрастать еще до рассечения ЖКТ (2 точка) и достигала максимума в 4 точке – 67% (59,67–74,56) и 97,9% (66,23–100,00) соответственно. На 5 сут. после операции фенотипические характеристики нейтрофилов нормализовывались.

Выводы. Таким образом, значительное повышение исследуемых параметров отмечается уже непосредственно после вскрытия брюшной полости, как реакция иммунной системы на хирургический стресс. При этом сначала наблюдается повышение уровня экспрессии CD11b, что предопределяет увеличение функциональной активности нейтрофилов крови.

Н.А. Плужникова, А.Ю. Галкина, Д.С. Цветков, Н.Ю. Анисимова, М.В. Киселевский
**ДИНАМИКА СЫВОРОТОЧНОГО БАКТЕРИАЛЬНОГО ЭНДОТОКСИНА
У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ В ИНТРАОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ**

ФГБУ «РОИЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Опубликован ряд исследований о влиянии стресса, в том числе и операционного, на изменение трансинтестинальной проницаемости у человека и лабораторных животных. Это явление может сопровождаться увеличением содержания в крови бактериального липополисахарида (ЛПС) – одного из факторов, запускающих каскад системной воспалительной реакции, лежащей в основе развития гнойно-септических осложнений.

Цель исследования. Оценка изменения концентрации ЛПС в крови онкологических больных в интраоперационном периоде.

Материалы и методы. В интраоперационном периоде исследована кровь 10 больных раком желудка II–III стадии, оперированных в объеме гастрэктомии. Отбор проб проводили во время операции: после вскрытия брюшной полости (1 точка); иссечения стенок желудка и 12-типерстной кишки (2 точка); наложения швов (3 точка), а также на 1-е, 3-е и 5-е сутки после операции (4–6 точки). Концентрацию ЛПС в сыворотке крови измеряли с помощью LAL-теста (HbT, The Netherlands). Первичные данные были описаны как медиана и размах 25% – 75% квартилей.

Результаты. У 7 (70%) больных наблюдалось значимое кратковременное повышение уровня ЛПС после иссечения стенок желудочно-кишечного тракта (0,04 (0–0,1) мкг/мл), из них у 3 (43%) больных значение сывороточной концентрации ЛПС было выше 0,1 мкг/мл. Максимальное значение концентрации эндотоксина составило 0,26 мкг/мл. У 4 оставшихся больных концентрация ЛПС в точке 2 находилась в диапазоне от 0,01 до 0,07 мкг/мл. К концу операции (точка 3) в сыворотке крови больных концентрация ЛПС снижалась до недетектируемых значений (0 мкг/мл). В ранний послеоперационный период у всех обследованных больных инфекционных осложнений не наблюдалось, при этом повышение уровня ЛПС в точках 4 – 6 также не выявлено.

Заключение. Повышение уровня ЛПС в сыворотке крови может быть обусловлено поступлением эндотоксинов из полости кишечника, как вследствие нарушения целостности его стенки, так и повышения трансинтестинальной проницаемости в результате стрессовой реакции организма на хирургическое вмешательство. Необходимо проведение дальнейших исследований с целью изучения механизмов возникновения ЛПС и выявления критического уровня ЛПС в плазме крови, способного запустить патологическое течение синдрома системного воспалительного ответа.

Е.М. Полковниченко, Е.Г. Зенит-Журавлева, А.А. Лушников, Е.М. Трещалина, Н.Т. Райхлин

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ АРГИРОФИЛЬНЫХ БЕЛКОВ В КСЕНОГРАФТАХ ОПУХОЛЕЙ ЧЕЛОВЕКА

ФБГУ «РОИЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Введение. Аргирофильные белки областей ядрышковых организаторов (Ag-ОЯОР) нуклеофозмин (В23) и нуклеолин (С23) наряду с Ki67 являются маркерами пролиферации и манифестируют степень прогрессии опухолей человека. В подкожных (п/к) ксенографтах опухолей человека (КОЧ) у nude мышей выявлена корреляция между числом, размером и формой окрашенных гранул Ag-ОЯОР белков и скоростью прохождения клеточного цикла. Определение Ag-ОЯОР белков и кодирующих их генов дополняет доклиническую характеристику КОЧ.

Цель работы. Анализ экспрессии генов *NPM1* и *NCL* в КОЧ у мышей nude разведения РОИЦ на основании количественного анализа продукции С23, В23 и Ki67 в опухолях. **Задачи:** 1) разработать количественный метод оценки содержания Ag-ОЯОР белков на срезах КОЧ; 2) определить содержание В23, С23 и Ki67 в доклинических КОЧ.

Материалы и методы. КОЧ 2-10 пассажей НСТ116 и РПоч1 у мышей Balb/c nude (РОИЦ). Гистологические и ИГХ-срезы (комм. поликлон. антитела к В23, С23 и Ki67). Для анализа изображений с определением относительной площади специфичных гранул (S%) модифицирована программа MatLab 7.0.

Результаты. Анализ изображений срезов показал, что для всех КОЧ продукция белков В23 и С23 выше в экспоненциальной фазе по сравнению со стационарной фазой роста и сопоставима с уровнем Ki67 и Ag-гранул. В этой фазе S% Ki67 в РПоч1 увеличилась в 1,3 раза (от 0,18 до 0,27), а в НСТ116 – в 1,45 раз (от 0,15 до 0,22) при аналогичной динамике Ag-гранул: в РПоч1 в 1,5 раза (от 0,04 до 0,05), а в НСТ116 – в 1,2 раза (от 0,10 до 0,12). В РПоч1 S% ИГХ-гранул В23 увеличилась в 3,7 раз (от 0,026 до 0,096), а в НСТ116 – в 2,5 раз (от 0,04 до 0,1), что коррелировало с увеличением объема опухоли. В РПоч1 S% С23 увеличилась в 2,9 раз (от 0,03 до 0,057), а в НСТ116 – в 1,3 раза (от 0,07 до 0,09). Одной из возможных причин дифференциальной экспрессии В23/С23 в опухолях разного происхождения в процессе роста могут быть мутации и патологические полиморфизмы генов *NPM1/NCL*.

Заключение. В подкожных КОЧ НСТ-116 и РПоч-1 выявлена корреляция между скоростью роста опухолей и экспрессией маркеров пролиферации: Ag-ОЯОР-белков В23/С23 и Ki-67. Полученные данные указывают на разный вклад В23 и С23 в регуляцию клеточного цикла в КОЧ. Разработан количественный метод оценки уровня экспрессии В23/С23 на разных фазах роста опухоли. Проводится поиск прогностически значимых структурных вариантов генов *NPM1/NCL*.

С.А. Полозкова, Н.Ф. Орел, А.А. Маркович, В.А. Горбунова

ХИМИОТЕРАПИЯ АРАНОЗОЙ В МОНОРЕЖИМЕ И В КОМБИНАЦИИ С ДРУГИМИ ПРЕПАРАТАМИ МЕТАСТАТИЧЕСКИХ НЕЙРОЭНДОКРИННЫХ ОПУХОЛЕЙ

ФГБУ «РОИЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Задачи исследования. Оценить эффективность и безопасность режимов химиотерапии на основе Аранозы в 1 – 5 линиях лечения метастатических нейроэндокринных опухолях (мНЭО) различной локализации.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 48 больных с мНЭО различной локализации в возрасте от 19 до 74 лет (средний возраст – 52,6 года). Пациенты были распределены в 3 группы: 1) Араноза в монорежиме – 480–690 мг/м² внутривенно с 1–3 д.; 2) Араноза – 500–760 мг/м² внутривенно с 1–2 д., Кселода – 2 г/м²/сутки с 1–14 д.; 3) Араноза – 450 мг/м² внутривенно с 1–2 д., Темодал – 100 мг/м²/сутки с 3–6 д. Интервал между курсами 3–4 нед. При удовлетворительной переносимости лечение продолжали до достижения максимального эффекта и два курса консолидирующей химиотерапии в тех же режимах. Оценку объективного (RECIST, версия 1.0), биохимического и симптоматического ответов проводили до момента регистрации прогрессирования заболевания. Нежелательные явления определялись в соответствии с критериями шкалы NCI-CTCAE, версия 3.0.

Результаты. Суммарно 48 больным было проведено 334 курса химиотерапии. Объективный ответ получен у 31,3 % пациентов (15/48). Стабилизация опухолевого процесса наблюдалась у 41,7 % (20/48) пациентов, прогрессирование у 27 % (13/48). Контроль роста опухоли составил 73 %. У 94,4 % больных (17/18) был получен симптоматический эффект, у 61 % (25/41) – биохимический ответ. Следует отметить удовлетворительную субъективную переносимость режимов на основе Аранозы. Из побочных явлений чаще всего отмечалась гематологическая токсичность преимущественно 1 и 2 степеней. В настоящее время 12 пациентов продолжают лечение, 10 находятся в состоянии ремиссии, у 21 зарегистрировано прогрессирование заболевания. Средняя выживаемость без прогрессирования составила 6,3 мес. (от 2–17 мес.). Проследить течение заболевания у 4-х пациентов не удалось.

Выводы. Проведенный анализ применения режимов химиотерапии на основе Аранозы показал, что они характеризуются хорошей переносимостью, эффективностью и минимальными токсическими проявлениями.

*И.Р. Просалкова, Н.К. Власенкова, А.Б. Капитанов, В.В. Решетникова,
М.Я. Шапкина, И.Ж. Шубина, А.В. Сергеев*

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ И МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СОЗДАНИЯ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ПРИРОДНОГО КАРОТИН-ТОКОФЕРОЛОВОГО КОМПЛЕКСА

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина» РАМН, Москва

Введение. Масляные экстракты (МЭ) плодов шиповника и томатов содержат большое количество биологических активных веществ (БАВ), в том числе природный каротин-токофероловый комплекс (КТК) и каротиноид ликопин (ЛК). Нами разработан лечебно-профилактический препарат на основе МЭ плодов шиповника и томатов.

Цель исследования. Провести необходимые фармацевтические и доклинические медико-биологические исследования препарата на основе природного КТК.

Материалы и методы. МЭ плодов шиповника и томатов получены с помощью органических растворителей по специально разработанной технологии с элементами ноу-хау. Определение бета-каротина (БК), альфа-токоферола (ТФ) и ЛК в МЭ проводили по модифицированному спектрофотометрическому методу. Содержание ретиноидов, БК и ТФ в плазме крови и тканях животных определяли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) по ранее разработанной нами методике.

Результаты. Разработана рецептура препарата на основе природного КТК с содержанием в субстанции БК, ТФ ЛК не менее 50, 25 и 20 мг% и соотношением линолевой (18:2) и линоленовой (18:3) кислот 2 : 1. Отработана технология получения препарата в мягких желатиновых капсулах. В исследованиях по изучению острой и подострой токсичности препарата на мышах и крысах показано, что многократное введение природного КТК per os в течение 2 недель в дозах, превышающих терапевтическую в 50 – 100 раз (до 2000-4000 мг/кг по БК) не вызывало симптомов интоксикации и гибели животных. В исследованиях по фармакокинетике на мышах, крысах и кроликах показано, что однократное введение препарата per os в дозе 4000 мг/кг по БК приводило через 1,5 – 2 часа к значительному повышению уровня БК, ТФ и ЛК в плазме крови с постепенным снижением концентрации витаминов до исходных значений в течение последующих 12-36 часов. КТК и ЛК при систематическом введении мышам BALB/c с индуцированным противоопухолевым препаратом аранозой вторичным иммунодефицитом частично корректировали симптомы иммунодепрессии.

Заключение. Разработанный препарат на основе природного каротин-токоферолового комплекса из плодов шиповника и томатов можно рассматривать в качестве потенциального средства химиопрофилактики рака.

В.А. Пурицханидзе¹, Е.Ф. Странадоко², Г.В. Пономарёв³

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ОБШИРНЫХ И РЕЦИДИВНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ПОРАЖЕНИЙ КОЖИ И ВНУТРИКОЖНЫХ МЕТАСТАЗОВ

¹Медицинский центр высоких технологий «ЛазерВита», Москва

²ГНЦ лазерной медицины, Москва

³Институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН, Москва

Задачи исследования. Оптимизация параметров фотодинамической терапии обширных и рецидивных злокачественных поражений кожи и внутрикожных метастазов. Сегодня лечение рака оказывается успешным для большинства больных только при начальных стадиях. Однако 2/3 больных в момент установления диагноза имеют далеко зашедший процесс. Лишь половина из них подвергается специальному лечению. Но возможности хирургического, лучевого, комбинированного и даже комплексного лечения в такой ситуации ограничены. Кроме того, имеется большая группа больных (до 25 %), у которых при наличии операбельного рака хирургическое вмешательство не может быть выполнено из-за тяжелых сопутствующих заболеваний и выраженных возрастных изменений. Для этих больных до последнего десятилетия не существовало адекватного метода лечения. Возможности современной онкологии значительно расширились с появлением фотодинамической терапии (ФДТ).

Материалы и методы. Нами накоплен опыт лечения пациентов с обширными злокачественными поражениями кожи и внутрикожными метастазами. ФДТ проводилась с целью гемостаза и уменьшения объема опухолевой ткани. Под нашим наблюдением находилось 82 пациента. Использовались фотосенсибилизаторы (ФС) отечественного производства (Радахлорин, Фотодитазин и Фотосенс). ФС вводился внутривенно (Радахлорин и Фотодитазин – 0,6–0,8 мг/кг, Фотосенс – 0,4–0,5 мг/кг), лекарственно-световой интервал составлял от 1 до 3 часов, плотность мощности – 200 Дж/см². Количество сеансов ФДТ зависело от характера заболевания и объема поражения (1–10 сеансов). Интервал между сеансами составлял от 3 до 14 дней.

Результаты и выводы. Применение ФДТ с паллиативной целью значительно уменьшает объем опухоли и полностью прерывает кровотечение, значительно улучшает качество жизни этой категории онкологических больных. Данный метод позволяет проводить специализированное лечение вышеуказанной категории больных, которым до применения ФДТ проводилась только симптоматическая терапия.

Н.А. Пятаев, П.С. Петров, Н.Н. Зыряева, О.В. Минаева, А.А. Фирсов, Н.А. Плотникова

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МАГНИТНОЙ ЖИДКОСТИ
НА ОСНОВЕ КОЛЛОИДНОГО МАГНЕТИТА Fe₃O₄
С НЕКОТОРЫМИ ЦИТОСТАТИЧЕСКИМИ ПРЕПАРАТАМИ**

ФГБОУ ВПО «Мордовский госуниверситет им. Н.П. Огарева», Саранск

Целью исследования. Изучение взаимодействия магнитной жидкости (МЖ) на основе коллоидного магнетита Fe₃O₄, стабилизированного олеинатом натрия, с цитостатическими препаратами (доксорубицин (ДРЦ) и циклофосфан (ЦФ)).

Материалы и методы. В качестве исходных материалов были использованы: магнитная жидкость на основе коллоидного магнетита Fe₃O₄, цитостатические препараты – доксорубицин и циклофосфан. Полидисперсные частицы магнетита получали путем соосаждения из водного раствора солей двух- и трехвалентного железа (FeCl₂ и FeCl₃), концентрированным раствором щелочи (NH₄OH), после чего стабилизировали олеинатом натрия. Для получения ассоциатов МЖ смешивали с раствором одного из исследуемых препаратов, смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, после чего подвергали лиофильной сушке. Конечная концентрация ДРЦ в смеси составила 2 мг/мл, ЦФ - 10 мг/мл. Твердый остаток анализировали методом ИК – Фурье спектроскопии на спектрометре Shimadzu IRAffinity-1. Для сравнения были сняты ИК спектры твердого компонента МЖ и каждого из препаратов.

Результаты. При анализе ИК-спектров ассоциатов ДРЦ-МЖ и ЦФ-МЖ были обнаружены все сигналы, характерные для каждого из компонентов смесей. Этот факт свидетельствовал об отсутствии образования ковалентных связей между частицами МЖ и исследуемыми цитостатиками. Вместе с тем, вероятно, что между наночастицами МЖ и препаратами возможны нековалентные взаимодействия за счет полярных (гидрофильных) функциональных групп молекул доксорубицина и циклофосфана. Об этом свидетельствовало изменение амплитуды и площади отдельных пиков ИК-спектрограмм ассоциатов ДРЦ-МЖ и ЦФ-МЖ по сравнению со спектрограммами изолированных препаратов и чистой МЖ. Подобные комплексы достаточно легко распадаются при воздействии каких-либо факторов, высвобождая действующее вещество в первоначальном виде.

Выводы. Доксорубицин и циклофосфан не образуют ковалентных связей с компонентами магнитной жидкости на основе наночастиц магнетита Fe₃O₄, стабилизированного олеинатом натрия. Ассоциаты доксорубицина и циклофосфана с МЖ могут служить основой для систем магнитоуправляемой доставки данных цитостатиков.

Natalya Rapoport

TUMOR-TARGETED DRUG DELIVERY: WHICH DRUG CARRIER TO PREFER?

Department of Bioengineering, University of Utah, Salt Lake City, Utah, USA

During the last decade, advances in nanomedicine have allowed the combination of various functionalities in molecular or supramolecular constructs, i.e. nanoparticles. Drug encapsulation in nanoparticles has numerous important benefits including (i) providing a dramatic increase of aqueous solubility of potent drugs that had been abandoned due to low solubility; (ii) protecting the drug from degradation under the action of body factors; (iii) offering the possibility of tumor targeting; and (iv) allowing the combining of chemotherapeutic and imaging agents, which can facilitate focusing of ultrasound energy in the desired volume as well as provide for early assessment of response to treatment. The family of nanoparticles includes dozens of organic and inorganic materials, among which liposomes, polymeric micelles, nano- and microemulsion droplets, and nano- and microbubbles have been extensively studied as internal or external stimuli responsive drug carriers that release their drug load only in response to an internal or external stimulus. Internal stimuli include increased pH and hypoxia of tumor tissue. External stimuli include heat, light, and ultrasound. Application of external stimuli for triggering drug release and enhancing intracellular uptake provides for additional degree of drug delivery localization. This response is a function of both the drug delivery vehicle type and the stimulus parameters. In the current presentation, principles of drug carrier selection and stimulus parameters for particular applications will be discussed. Application of thermal vs. mechanical energy will be illustrated for drug delivery in liposomes, micelles, phase-shift nanoemulsions, and/or microbubbles. Advantages and limitations of each drug carrier will be presented. In addition, safety issues, such as induction of genetic instability, development of drug resistance or selection for resistant cancer cells will be discussed.

А.В. Рябова, С.В. Кузнецов, Д.В. Поминова, Е.О. Соболева, А.И. Климов, М.Н. Маякова, Д.С. Лось, В.В. Волков, П.П. Фёдоров, В.Б. Лоцёнов

НАНОЧАСТИЦЫ ФТОРИДОВ С ВОЗМОЖНОСТЬЮ ап-КОНВЕРСИИ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ

ФГБУН Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН (ИОФ РАН), Москва

По сравнению с органическими люминофорами и полупроводниковыми нанокристаллами, наночастицы с возможностью возбуждения люминесценции по механизму ап-конверсии (ап-НЧ) обеспечивают высокую фотохимическую стабильность, узкие полосы излучения, и большое расстояние (до 500 нм) между отдельными пиками люминесценции и возбуждающей длиной волны в ИК диапазоне, что позволяет их легко разделить. Наряду с повышенной глубиной проникновения света и отсутствием паразитной флуоресценции биомолекул при ИК возбуждении, такие ап-НЧ идеально подходят для использования в качестве люминесцентных зондов в биологических исследованиях и для флуоресцентной диагностики. Также при ИК-облучении уменьшаются процессы фотообесцвечивания и фототоксичности. Задачей текущего исследования было разработать кристаллические наночастицы неорганических фторидов с матрицами NaYF_4 , CaF_2 , допированные редкоземельными элементами $\text{Yb}^{3+}\text{-Er}^{3+}$, $\text{Yb}^{3+}\text{-Tm}^{3+}$ и $\text{Yb}^{3+}\text{-Ho}^{3+}$, обладающие высоким квантовым выходом люминесценции при ап-конверсионном механизме возбуждения. Для синтеза был использован метод соосаждения нанопорошков из водных растворов. Гидродинамические размеры наночастиц в жидкостях определялись с помощью многоуглового спектрометра динамического рассеивания света Photocor Complex (Россия). Люминесцентные исследования проводились с использованием установки для лазерно-индуцированной люминесцентной спектроскопии, включающей волоконно-оптический спектроанализатор ЛЭСА-01-Биоспек, модифицированную интегрирующую сферу производства Avantes, лазер 974 нм. В результате работы получены серии монодисперсных кристаллических наночастиц с возможностью присоединения органических соединений на поверхности, с размерами от 20 до 400 нм. Установлена взаимосвязь между допирующим составом и интенсивностью высвечивания люминесценции ап-конверсии, в отдельных случаях достигающей 7 %.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов Президента РФ (МК № 4408.2011.2), МОН (мероприятие 1.2.1, проведение научных исследований научными группами под руководством докторов наук: № П544 от 17.05.2010 г.; мероприятие 1.2.2, проведение научных исследований научными группами под руководством кандидатов наук: № 14.740.12.1343 от 03.10.2011).

И.В. Самойленко, Т.Н. Заботина, О.В. Короткова, С.С. Соловьев, И.Н. Михайлова, С.А. Хатырев, Л.В. Демидов, З.Г. Кадагидзе

ВЗАИМОСВЯЗЬ ИММУНОФЕНОТИПА ЛИМФОЦИТОВ С КЛИНИЧЕСКИМ ТЕЧЕНИЕМ ДИСSEМИНИРОВАННОЙ МЕЛАНОМЫ КОЖИ

ФГБУ «РОИЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Цель исследования. Изучить влияние полихимиотерапии и вакцинотерапии на клиническое течение диссеминированной меланомы кожи.

Материалы и методы. В исследование включено 86 больных диссеминированной меланомой кожи, предварительно не получавших лечения по поводу основного заболевания, либо получившие одну линию дакарбазином в монорежиме, либо в сочетании с интерферонами. В качестве контроля использовали периферическую кровь 31 практически здорового донора. Иммунофенотипирование лимфоцитов проводили методом многопараметрового анализа.

Результаты и выводы. На первом этапе лечения все пациенты получили 2 цикла ПХТ по схеме CVD (цисплатин $20\text{мг}/\text{м}^2$ в 1–4 дни, винбластин $2,0\text{мг}/\text{м}^2$ в 1–4 дни и дакарбазин $800\text{мг}/\text{м}^2$ в 1 день, цикл 28 дней). После 2 цикла ПХТ была оценена клиническая эффективность проводимого лечения. Прогрессирование заболевания выявлено у 38 человек (44,2 %), стабилизация, частичный и/или полный эффект – у 48 больных (55,8 %). Больные с прогрессирующим течением заболевания исключены из исследования, а пациенты с положительным эффектом рандомизированы на 2 группы. В первой группе пациенты продолжали получать лечение по схеме CVD, во второй группе больные получали иммунотерапию аутологичной дендритноклеточной вакциной (ДВ). Введение ДВ осуществлялось каждые 14 дней. Оценка эффекта в обеих группах проводилась после каждого четного цикла лечения (на 7–8 неделе). Клиническое течение заболевания различалось в обеих группах уже на первом этапе обследования (после 4 циклов ПХТ и 4 введения ДВ). Стабилизация наблюдалась у 53,8 % пациентов (1 группа), у 85,7 % больных (2 группа); прогрессирование – у 46,2 % и у 14,3 % (соотв.). На всех этапах оценки клинического течения заболевания проводилось иммунофенотипирование лимфоцитов. Выявлено, что линейные показатели $\text{CD3}^+\text{CD45}^+$, $\text{CD3}^+\text{CD16}^+\text{CD56}^+\text{CD45}^+$, $\text{CD19}^+\text{CD45}^+$ больных до ПХТ не отличались от контроля. Однако, число NKT-лимфоцитов с фенотипом $\text{CD3}^+\text{CD16}^+\text{CD56}^+\text{CD45}^+$ было в 1,4 раза выше нормы. Независимо от вида лечения у больных с прогрессирующим течением нарастало число NKT-клеток. У пациентов с прогрессией заболевания наблюдалось снижение CD4 и повышение CD8 лимфоцитов, в то время как у больных со стабилизацией, наоборот, повышалось количество CD4 и снижалось число CD8 клеток.

А.В. Самойлов¹, Н.В. Кирбаева¹, А.З. Кесян¹, Н.М. Сураева²

ТРАНСФЕКЦИЯ ЭКЗОГЕННОЙ ДНК КЛЕТОК ЯЙЦЕВОДА КУР

¹НИИ Биологии развития им. Н.А. Кольцова РАН, Москва

²ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Трансгенная птица с тканеспецифичной экспрессией рекомбинантного белка в яйце является потенциальным продуцентом для широкомасштабного производства терапевтических препаратов. При этом в качестве тест системы генной конструкции по эффективности продукции рекомбинантного белка возможно использовать *in vitro* трансфицированные клетки яйцевода курицы.

Цель исследования. Отработка метода культивирования и трансфекции экзогенным геном первичных клеток яйцевода кур.

Материалы и методы. Из участка яйцевода курицы выделяли эпителиальные клетки. Для культивирования клеток яйцевода использовали культуральную среду DMEM с добавками. Трансфекцию клеток проводили для трансфекции – «Lipofectamin® 2000», (Invitrogen, США). Для трансфекции клеток яйцевода применяли генную конструкцию на основе вектора pIRES EGFP2 (фирмы Clontech, США).

Результаты. Было изучено три способа выделения первичных клеток яйцевода кур. Хороший рост клеток отмечался только при получении клеток методом инкубации кусочка яйцевода курицы в растворе Трипсина-Версена при 38°C. При культивировании клетки представляли собой однослойную культуру, с четкими границами клеток, вытянутой формы, без выраженного ядра. Клетки пассировались кратно на протяжении 5 пассажей, при этом фенотипических свойств, клетки не меняли. После проведения трансфекции клеток было отмечено высокая эффективность экспрессии экзогенного гена в виде зеленого свечения гранул белка в клетках в ультрафиолетовом свете.

Выводы. В результате проведенных исследований впервые получена оригинальным методом и охарактеризована культура клеток яйцевода курицы. Подобраны условия условия трансфекции, с применением препарата для трансфекции – «Lipofectamin® 2000» полученной культуры, а также продемонстрирована экспрессия белка GFP в культуре трансфицированных клеток. Полученные результаты и разработанные подходы позволяют использовать культуру клеток яйцевода курицы для тестирования генных конструкций, применяемых для получения трансгенной птицы.

Е.В. Санарова, А.П. Положкова, О.Л. Орлова, А.В. Ланцова, Н.А. Оборотова

РАЗРАБОТКА ПЛАНА ВАЛИДАЦИИ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ПОЛУЧЕНИЯ ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ТИОСЕНСА

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

В лаборатории разработки лекарственных форм НИИ ЭДиТО ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН разрабатывается лиофилизированная липосомальная лекарственная форма (ЛЛЛФ) фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии – Тиосенса. Переход от лабораторного к серийному производству требует разработки плана валидации технологического процесса получения ЛЛЛФ.

Задачи исследования. Цель валидации технологического процесса получения ЛЛЛФ Тиосенса – подтвердить, что технологический процесс в пределах установленных технологическим регламентом параметров обладает повторяемостью и надежно производит готовый продукт, соответствующий требованиям ФСП.

Материалы и методы. При освоении новых технологий применяется перспективная валидация, состоящая из 4 этапов. На 1 этапе разрабатываются планы проведения экспериментов по стадиям процесса для определения критических параметров на каждой из них. 2 этап включает в себя согласование критических параметров стадий процесса и составление заключений. Проведение 3 этапа состоит из утверждения программы валидации процесса и производства не менее 3-х серий продукта в пределах установленных на 2 этапе исследования. Составление и утверждение протокола о валидации процесса происходит на 4 этапе валидации.

Результаты и выводы. На 1 этапе валидации составлен план эксперимента, включающий описание: стадий процесса/эксперимента, состава рабочей группы по валидации, контролируемых переменных, исходного сырья и материалов, контролируемых характеристик и свойств продукта/полупродукта, времени проведения экспериментов. На 2 этапе сформированы – план с заполненными формами, данные анализа и принятые значения параметров, изменения. На 3 этапе нарабатывали 3 серии ЛЛЛФ Тиосенса. 4 этап включал составление протокола валидации процесса, проведение оценки полученных данных и сравнение их с ожидаемыми, корректировку и формирование схемы постайдного контроля, принятие решения о статусе процесса производства (валидировано/не валидировано).

Работа выполнена в рамках научно-технической программы «Разработка и практическое освоение в здравоохранении новых методов и средств профилактики, диагностики и лечения онкологических, инфекционных и других опасных заболеваний» при финансовой поддержке Правительства г. Москвы.

*В.М. Сафронова, И.Ж. Шубина, Е.М. Погодина, И.К. Воротников, К.С. Титов,
Е.А. Черемухин, Д.А. Рябчиков, М.В. Киселевский*

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ АДЬЮВАНТНОЙ АДОПТИВНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Адьювантная иммунотерапия с использованием лимфокин-активированных киллеров (ЛАК) позволяет увеличить безрецидивную выживаемость онкологических больных. Для повышения эффективности этого вида биотерапии предлагается использовать активированные эффекторные клетки, выделенные из интактных лимфатических узлов, дренирующих область опухоли, которые представляют смешанную популяцию лимфоцитов и дендритных клеток (ДК).

Цель исследования. Разработка методики получения смешанной культуры активированных лимфоцитов и ДК из дренирующих опухоль лимфатических узлов и оценка перспективности их клинического применения для адьювантной адоптивной иммунотерапии больных раком молочной железы.

Материалы и методы. В интраоперационный период у 16 больных производили отбор визуально неизмененных лимфатических узлов (л/у), дренирующих опухоль. Из л/у получали клеточную суспензию посредством механического дезагрегирования и трехкратного центрифугирования в физиологическом растворе. После цитологического исследования полученные мононуклеарные клетки (МЛ) культивировали в течение 2 недель в полной культуральной среде с интерлейкином-2 (ИЛ-2). Иммунофенотип МЛ определяли до и после окончания инкубации.

Результаты. Проведенное исследование позволило установить, что МЛ, выделенные из л/у онкологических больных преимущественно представлены лимфоцитами, из которых 80 % экспрессируют молекулы CD3, CD4 и CD8. Содержание дендритных клеток в культуре, выделенной из л/у не превышало 2 %. У 3 (18,75 %) больных в л/у обнаружены единичные опухолевые клетки. После элиминации посредством иммуномагнитной сепарации опухолевых клеток, суспензию МЛ инкубировали с ИЛ-2, что приводило к пролиферации лимфоцитов и ДК, содержание последних в культуре активированных эффекторных клеток достигало 10 %.

Выводы. Л/у, удаленные во время операции являются источником эффекторных клеток, которые могут быть использованы для получения смешанной популяции активированных лимфоцитов и ДК. Необходимо проведение дальнейших исследований для решения вопроса о целесообразности клинической апробации метода адьювантной адоптивной ИЛ-2/ЛАК-ДК-иммунотерапии у больных раком молочной железы.

Ф.С. Сенатов¹, А.А. Баранов¹, А.В. Максимкин¹, А.Н. Копылов², Н.Ю. Анисимова², М.В. Киселевский²

ПЕРСПЕКТИВНЫЙ НАНОКОМПОЗИТНЫЙ МАТЕРИАЛ НА ОСНОВЕ СВЕРХВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ПОЛИЭТИЛЕНА ДЛЯ ЗАМЕЩЕНИЯ ДЕФЕКТОВ ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ

¹Национальный Исследовательский Технологический Университет «МИСиС», Москва

²ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

В ходе нашей работы был синтезирован новый композиционный материал на основе сверхвысокомолекулярного полиэтилена (СВМПЭ) (молекулярная масса 2 млн. г/моль) с включением наночастиц оксида алюминия (Al₂O₃) (средний размер частиц 20 нм).

Материалы и методы. Композиционный материал был получен в процессе твердофазного деформационного формирования при использовании порошка СВМПЭ в качестве матрицы. Были изучены механические свойства полученных образцов, а также в опытах *in vitro* степень адгезии фибробластов и выпадение фибрина сыворотки крови на поверхности тестируемых материалов.

Результаты. Процесс получения нанокompозита заключается в механоактивационной обработке смеси порошка СВМПЭ и нанопорошков оксида алюминия в планетарной шаровой мельнице с последующим термопрессованием, что позволяет повысить прочность на 38 %, увеличить показатель модуля Юнга в 2,85 раз и ударную вязкость в 1,7 раз. Отношение упругого модуля нанокompозита к упругому модулю костной ткани составляет 1:8 против 1:21 в случае ненаполненного СВМПЭ, что особенно важно, так как большая разница упругих модулей может привести к возникновению микронапряжений на границе протез-кость и привести к деструкции импланта. При этом, коэффициент трения снизился в 1,7 раз, а площадь пятна износа уменьшилась в 1,9 раз. При инкубировании образцов тестируемого материала в сыворотке крови здоровых доноров в течение 48 ч не наблюдалось признаков выпадения фибрина на их поверхности, кроме того в результате инкубации в течение 1 месяца с культурой фибробластов в среде RPMI-1640 на поверхности образцов тестируемого нанокompозита наблюдалась адгезия лишь единичных клеток (0–4 клеток/см²).

Заключение. Таким образом, в результате использования предлагаемого подхода удалось добиться улучшения качества исходного материала, на поверхности которого практически не происходит выпадения фибрина и адгезии фибробластов. Предлагаемый нанокompозит может рассматриваться в качестве потенциально перспективной основы для замещения суставных поверхностей, а также в качестве ацетабулярного компонента эндопротеза тазобедренного сустава.

А.В. Сергеев, Н.К. Власенкова, В.В. Решетникова, М.Я. Шапкина, И.Ж. Шубина
**ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ СРЕДСТВО
 НА ОСНОВЕ ОТЕЧЕСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ**

ФГБУ «РОИЦ им. Н.Н.Блохина» РАМН, Москва

Введение. Профилактика злокачественных новообразований относится к приоритетным направлениям современной онкологии. Нами разработано комплексное лечебно-профилактическое средство (ЛПС) на основе доступного отечественного сырья. Состав и технология получения ЛПС защищены патентом РФ № 2238751.

Цель исследования. Изучение противоопухолевых, антиметастатических, иммуномодулирующих и других свойств разработанного нами ЛПС.

Материалы и методы. Разработанное ЛПС содержит экстракты айра, солодки, шиповника, чаги, и других растений, а также витамины группы В, фолиевую и янтарную кислоты в количествах, покрывающих суточную потребность организма человека в этих соединениях. Водные и масляные растительные экстракты получали по специальной технологии с элементами ноу-хау.

Результаты. Противоопухолевая и антиметастатическая активность ЛПС изучена на модели перевиваемой карциномы лёгких Льюиса в сравнении с цитостатиком циклофосфаном (ЦФ), который вводили мышам внутрибрюшинно в дозе 100 мг/кг веса тела через 10 дней после перевивки опухолевых клеток с интервалом в 96 часов. ЛПС вводили животным ежедневно вместе с кормом в дозе 25 мг/кг. На 27-ые сутки после перевивки опухоли один ЦФ вызывал 35-40%-ное, а комбинация ЦФ и ЛПС приводила к 50-55%-ому торможению роста опухоли. Частота метастазирования в контроле равнялась 52%, при лечении ЦФ и ЛПС составляла 25% и 20%, соответственно. На модели вторичного иммунодефицита, индуцированного у мышей противоопухолевым цитостатиком аранозой, ежедневное введение ЛПС частично корректировало снижение пролиферативной активности и образование Т-киллеров в смешанной культуре лимфоцитов. Систематическое введение ЛПС крысам повышало на 65-70% физическую работоспособность в тесте с четыреххлористым углеродом и в 1,5-2 раза выживаемость животных при однократном гамма-облучении в сублетальной дозе 850 р. При клинической апробации ЛПС в группах добровольцев с хронической бронхопневмонией, с заболеваниями желудочно-кишечного тракта и больных с мастопатиями показано положительное влияние ЛПС на течение основного заболевания.

Заключение. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что разработанное ЛПС можно рассматривать как потенциальный комплексный препарат для химиопрофилактики злокачественных новообразований.

*М.А. Сироткина^{1,2}, В.В. Елагин^{1,2}, А.А. Кордюкова², Л.Б. Снопина¹,
 А.Г. Галка³, А.В. Стриковский³, Е.В. Загайнова^{1,2}*

**ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СВЧ ЭНЕРГИИ
 НА ОПУХОЛИ В ПРИСУТСТВИИ ЗОЛОТЫХ НАНОСТЕРЖНЕЙ**

¹*Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород*

²*Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород*

³*Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород*

Цель исследования. Разработка метода локальной СВЧ терапии опухоли с применением золотых наностержней.

Задачи исследования. Изучить противоопухолевый эффект энергии СВЧ и золотых наностержней.

Материалы и методы. В работе использовали золотые наностержни (60×30нм, 0,03мг/мл). Наночастицы применяли внутривенно по 100 мкл. Исследование выполнено на самках мышей линии СВА. В качестве модели опухоли использовали рак шейки матки (РШМ-5). Эксперименты начинали на 14 день после трансплантации. Воздействие СВЧ энергией на опухоли осуществляли с помощью установки КСТД-1 (ИПФ РАН, Нижний Новгород). По результатам предварительных экспериментов по подбору режимов было выбрано 2 режима: 150 Дж однократное воздействие и 50 Дж трехкратное воздействие. Температуру контролировали ИК-термографом. Через сутки после лечения образцы опухолевой ткани забрали на морфологическое исследование.

Результаты. Получено, что СВЧ воздействие вызывает локальный нагрев опухоли. Воздействие СВЧ энергией в режиме 150 Дж привело к значительному возрастанию температуры: 54 °С при наличии наностержней в опухоли и 48,5 °С без наночастиц. При режиме 50 Дж изменение температуры было существенно меньше: 42,6 °С и 41,2 °С соответственно. Режим трехкратного воздействия энергией 50 Дж оказал выраженный противоопухолевый эффект. Коэффициент торможения роста опухоли превышал 60 % в течение более чем 7 дней. Морфологическое исследование показало, что трехкратное воздействие СВЧ энергией 50 Дж при наличии в опухоли наностержней привело к серьезным повреждениям опухолевой ткани.

Заключение. Трехкратное СВЧ воздействия энергией 50 Дж оказалось более эффективным, чем однократное воздействие энергией 150Дж.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки (ГК 02.740.11.0713, 11.Г.34.31.0017)

*З.С. Смирнова¹, К.В. Ермакова¹, И.Ю. Кубасова¹, Л.М. Борисова¹, М.П. Киселева¹, Е.В. Санарова¹,
А.В. Ланцова¹, А.П. Полозкова¹, Н.А. Оборотова¹, Г.А. Меерович², Е.А. Лукьянец³*

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

С ОТЕЧЕСТВЕННЫМ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОМ ТИОСЕНС НА ГЛИОМЕ С6 КРЫС

¹ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

²ЦЕНИ ИОФ им. А.М. Прохорова РАН, Москва

³ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва

Высокая избирательность поражения опухоли при ФДТ позволяет минимально травмировать окружающие здоровые ткани, что обуславливает высокий терапевтический результат лечения, не вызывая тяжелых местных и системных осложнений. Одним из важных направлений повышения эффективности фотодинамической терапии (ФДТ) является поиск фотосенсибилизаторов с поглощением в спектральном диапазоне 700 – 800 нм, в котором собственное поглощение биологических тканей минимально. В 2007 г. было начато исследование по оценке эффективности ФДТ с фотосенсибилизатором тиосенс (тетра-3-фенилтиофталогидроксиалюминия), имеющим один из максимумов поглощения в спектральном диапазоне 717±4 нм в виде липосомальной дисперсии. К настоящему времени разработана стабильная лиофилизированная липосомальная лекарственная форма препарата (Тиосенс-ЛИО).

Цель исследования. Оценка эффективности ФДТ с Тиосенсом-ЛИО в монотерапии и при комбинированном лечении глиомы С6 крыс.

Материалы и методы. Глиому С6 перевивали интракраниально крысам породы Wistar по 400×10³ опухолевых клеток. Тиосенс-ЛИО вводили внутривенно в дозе 3 мг/кг на 6 день опыта за 24 ч до проведения ФДТ. Лазерное облучение проводили в дозе 90 Дж/см². Лизомустин вводили однократно внутривенно в дозе 80 мг/кг. Критерием эффективности служило увеличение продолжительности жизни опытных крыс по сравнению с контрольными животными (УПЖ, %).

Результаты. Установлено, что терапевтическая эффективность ФДТ с Тиосенсом-ЛИО при поверхностном лазерном облучении после декомпрессионной краниотомии (4×5 мм) составляет 47 % УПЖ. При дополнительном проведении после ФДТ химиотерапии с лизомустином эффективность возрастает до 73%. Лизомустин в монотерапии вызывает УПЖ = 66 %. Резекция глиомы С6 под контролем флуоресценции протопорфирина-IX вызывает УПЖ = 43 %. Наибольшая эффективность наблюдалась при комбинированном лечении с использованием декомпрессионной краниотомии, резекции опухоли, интраоперационной ФДТ с Тиосенсом-ЛИО и химиотерапии с лизомустином (УПЖ=82%).

Заключение. Лечение глиомы С6 должно быть комбинированным и включать декомпрессионную краниотомию, резекцию опухоли, интраоперационную ФДТ с Тиосенсом-ЛИО и химиотерапию с лизомустином.

*З.С. Смирнова, Л.М. Борисова, М.П. Киселева, Л.В. Эктова, Т.Д. Миникер,
А.В. Ланцова, О.С. Зверева, О.Л. Орлова, Н.А. Оборотова*

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОТОТИПА ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ СОЕДИНЕНИЯ ЛХС-1208 ДЛЯ ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

В ряду N-гликозилированных производных индоло[2,3-а]карбазола из 14 веществ отобрано для доклинического изучения соединение ЛХС-1208, нерастворимое в воде. Разработан прототип лекарственной формы препарата для внутривенного введения.

Цель исследования. Оценить противоопухолевую эффективность прототипа лекарственной формы соединения ЛХС-1208 для внутривенного введения в сравнении с субстанцией при внутрибрюшинном введении на лимфоцитарной лейкемии Р-388 мышей.

Материалы и методы. Противоопухолевая активность исследовалась *in vivo* на самках мышей-гибридов BDF₁ на перевиваемой асцитной форме лимфоцитарной лейкемии Р-388. Опухоль имплантировали внутрибрюшинно асцитной жидкостью по 10⁶ клеток при разведении в среде 199 до 0,3 мл/мышь. Прототип лекарственной формы соединения ЛХС-1208 вводили внутривенно ежедневно в течение 5 дней в дозах 10 мг/кг, 25 мг/кг и 50 мг/кг. Субстанцию растворяли в 10% растворе ДМСО и физиологическом растворе и вводили внутрибрюшинно в дозах 10 мг/кг, 25 мг/кг и 50 мг/кг, 75 мг/кг и 100 мг/кг. Лечение начинали через 24 ч после перевивки опухоли. В опытных группах было по 7 – 9 мышей, в контрольной группе – 10 животных. Критерием эффективности служило увеличение продолжительности жизни опытных мышей по сравнению с контрольными животными (УПЖ, %).

Результаты. При оценке эффективности на Р-388 прототипа лекарственной формы для внутривенного введения в дозе 50 мг/кг выявлена противоопухолевая активность 122 % УПЖ, равная с эффективностью субстанции при внутрибрюшинном введении, но в дозе 100 мг/кг – 119 % УПЖ. Таким образом, проведенные исследования показали, что по терапевтической эффективности прототип лекарственной формы для внутривенного введения соединения ЛХС-1208 не уступает субстанции, разведенной в 10% ДМСО при внутрибрюшинном введении, но терапевтическая доза прототипа в два раза меньше, чем субстанции.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости продолжить исследования по разработке лекарственной формы для внутривенного введения соединения ЛХС-1208 с целью изучения его спектра действия.

З.С. Смирнова¹, О.Ю. Аришинова¹, Л.М. Борисова¹, М.П. Киселева¹,
А.П. Полозкова¹, О.Л. Орлова¹, Г.А. Меерович², Н.А. Оборотова¹

ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ УРОВНЯ И СЕЛЕКТИВНОСТИ НАКОПЛЕНИЯ ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ФОТОДИТАЗИНА НА P-388

¹ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

²ЦЕНИ ИОФ им. А.М. Прохорова РАН, Москва

Фотодитазин высоко активный фотосенсибилизатор, применяемый для проведения фотодинамической терапии при первичном и рецидивном раке кожи, меланоме сосудистой оболочки глаза, раке мочевого пузыря и комплексном лечении глиальных опухолей супратенториальной локализации. В лаборатории разработки лекарственных форм разрабатывается лиофилизированная лекарственная форма фотодитазина (Фотодитазин-ЛИО), которая позволит хранить его в течение длительного времени.

Цель исследования. Изучение уровня и селективности накопления Фотодитазина-ЛИО в сравнении с концентратом для инфузий фотосенсибилизатора (ФС) в ткани лимфоцитарной лейкемии P-388.

Материалы и методы. P-388 перевивали мышам гибридам первого поколения BDF₁ (C₅₇Bl/6 × DBA/2) внутримышечно в голень правой задней лапы асцитной жидкостью, разведенной средой 199, по 0,2 мл, содержащих 10⁶ опухолевых клеток. Две лекарственные формы вводили однократно внутривенно в дозе 10 мг/кг. Уровень накопления Фотодитазина-ЛИО в опухоли и нормальной ткани (коже) оценивали по флуоресценции ФС спектрально-флуоресцентным методом с использованием спектроанализатора «ЛЭСА-01-Биоспек».

Результаты. Максимальный уровень накопления Фотодитазина-ЛИО как в опухоли, так и коже выявлен через 1 ч после его введения и составляет 1,9 усл. ед. и 1,0 усл. ед. соответственно. Далее уровень накопления резко снижается и через 24 ч остаются следы препарата. Максимальный индекс селективности наблюдается через 5 ч после его введения и составляет 4,0, который сохраняется в течение 2 ч. Максимальный уровень накопления Фотодитазина в виде концентрата для инфузий в опухоли и коже также наблюдается через 1 ч после его введения, но по величине он почти в два раза ниже уровня накопления Фотодитазина-ЛИО и составляет 1,1 усл. ед. и 0,6 усл. ед. соответственно. В то же время максимальный индекс селективности Фотодитазина-ЛИО составляет также 4,0 через 5 ч после введения.

Заключение. В результате проведенных исследований установлено, что уровень накопления Фотодитазина-ЛИО в ткани P-388 в 1,7 раза выше, чем при введении его в виде концентрата для инфузий. Эти данные свидетельствуют, о более селективном накоплении Фотодитазина-ЛИО в опухоли.

Н.А. Сокуева

АВТОМАТИЗИРОВАННЫЕ МЕТОДЫ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ: СКРИНИНГ ВЕЩЕСТВ, ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ И ТОКСИЧНОСТИ, СЕЛЕКЦИЯ ПРОДУЦЕНТОВ

Technoinfo Ltd., Москва

Разработка лекарственных препаратов – длительный и трудоемкий процесс, который требует огромного вложения денег и сил квалифицированных специалистов. Современное оборудование призвано упростить и значительно ускорить скрининг и производство лекарств, оптимизировав и автоматизировав его. Оно может помочь в скрининге веществ для поиска нужного терапевтического эффекта. Это и скрининг веществ на активацию рецепторов и ионных каналов (**Molecular Devices**), и изучение структуры терапевтических белков (спектроскопия **Applied Photophysics**), и изучение воздействия белок-белок, белок-клетка (приборы на основе акустических волн **SAW Instruments**, Германия). Важным этапом является оценка действия возможного лекарственного препарата на живые клетки, то есть цитотоксичности веществ. Три уникальные автоматизированные микроскопические системы **Molecular Devices** (США) линейки ImageXpress (широкопольная, конфокальная и лазерный цитометр) с высококачественной оптикой для анализа, как на субклеточном уровне, так и целых модельных организмов, служат интересам различных сфер от фундаментальных исследований до разработки лекарственных препаратов. Анализ изображений с помощью программного обеспечения MetaMorph обеспечивает набор приложений для многопараметрического скрининга. Встроенная обработка данных значительно упрощает хранение и анализ изображений, а также поиск интересующих объектов для быстрого перехода к следующей стадии исследований.

Следующим решением является автоматизация процесса отбора клеток в производстве моноклональных антител, что обеспечивает высокую производительность клонов. Устройство ClonePix2 (**Molecular Devices**, Великобритания) представляет собой автоматизированное устройство отбора колоний клеток млекопитающих, которое дает возможность лабораториям сортировать более 5000 колоний в день по сравнению с предельными 1000 колониями в неделю при традиционных методах. Автоматизация на данном этапе имеет ряд и других преимуществ: колонии могут быть отобраны раньше в процессе культивирования, большее количество отобранных колоний увеличивает спектр антител и биофармацевтических производящих клеток. Таким образом, правильно подобранный комплекс оборудования может значительно ускорить разработку, поиск и производство лекарств, а также научные фундаментальные исследования в клеточной биологии.

Е. Ф. Странадко

ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ И СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ФДТ В РОССИИ

ФГБУ «Государственный научный центр лазерной медицины ФМБА России», Москва

Среди Европейских стран Россия оказалась в числе пионеров развития клинической фотодинамической терапии (ФДТ). Инициатором разработки метода ФДТ в масштабах СССР был директор института лазерной хирургии (ГНЦ), член-корреспондент РАМН, проф. О.К. Скобелкин. Для создания отечественных фотосенсибилизаторов и разработки лазерных аппаратов для ФДТ он объединил усилия ряда институтов химического и физического профиля. В 1990 г. в Московском институте тонкой химической технологии им. М.В.Ломоносова под руководством проф. А.Ф. Миронова создан отечественный фотосенсибилизатор из группы производных гематопорфирина – Фотогем. В феврале 1992 г. в ГНЦ лазерной медицины начаты клинические испытания метода ФДТ с Фотогемом. Получив в результате первых курсов ФДТ полную или выраженную (более 50%) резорбцию поверхностных опухолей при отсутствии осложнений, мы с апреля 1992 г. начали применять внутритканевую ФДТ при раке молочной железы, а 1 сентября 1992 г. впервые в России применили эндоскопическую ФДТ при центральном раке нижней доли левого легкого с ателектазом. В октябре 1992 г. к программе клинической ФДТ рака присоединился МНИОИ им. П.А. Герцена. В последующие годы клинические испытания метода ФДТ в России приобрели широкомасштабный характер. Наряду с 4 столичными институтами (ГНЦ лазерной медицины Минздрава России, МНИОИ им. П.А. Герцена, онкологическим научным центром РАМН и факультетской хирургической клиникой Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова) клинические испытания стали проводиться в ряде региональных лазерных центров. В 1994 г. в ГНЦ «НИОПИК синтезирован фотосенсибилизатор второго поколения Фотосенс – сульфированный фталоцианин алюминия, а в 1996–1998 гг. в Институте биомедицинской химии РАН проф. Г.В. Пономаревым создан ряд фотосенсибилизаторов второго поколения, производных хлорина еб (Фотодитазин и др.) и уже в 1998 году в ГНЦ лазерной медицины начаты клинические испытания Фотодитазина. Они проведены на 78 опухолях как наружных, так и внутренних локализаций у 72 больных. Получены хорошие результаты ФДТ: полной резорбции подверглись 70 % опухолей. В 1997 г. в ГНЦ лазерной медицины разработана антимикробная ФДТ длительно не заживающих гнойных ран и трофических язв сосудистой этиологии. ФДТ нашла широкое применение при лечении хронических заболеваний ЛОР-органов воспалительной природы и др. заболеваниях.

Ю.В. Стукалов, Е.Л. Кадырова, Е.Ю. Григорьева, Т.А. Сидорова

ЦИТОТОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ REDOX-ДЕНДРИМЕРОВ

ФГБУ «РОИЦ им. Н.Н.Блохина» РАМН, Москва

Нами синтезированы дендримеры (REDOX-дендримеры), содержащие в своей структуре алкиловые эфиры антрахинона. Они могут образовывать анион-радикалы, которые оказывают разрушающее действие на клеточные структуры. Учитывая некоторую общность строения синтезированных дендримеров с доксорубицином (DOX), можно предполагать и противоопухолевую активность.

Задачи. Исследовать цитотоксическую активность и механизм действия REDOX-дендримера на клетках млекопитающих *in vitro*.

Материалы и методы. Использованы линии клеток млекопитающих: 1) эпителиальные клетки яичек китайского хомячка (СНО-К1); 2) эмбриональные фибробласты сирийского хомячка (ХЭТР-SR и ХЭТР-N-gas) с высоким и низким уровнем каталазной активности соответственно; 3) линии эритромиелозы человека (K562 и ее вариант K562/iS9, обладающий высокой множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). Цитотоксическую активность REDOX-дендримера и DOX определяли методом подсчета пролиферативного индекса клеток, тестами на клонообразование и МТТ. Степень разрушения геномной ДНК, выделенной стандартным фенол-хлороформным методом, после воздействия высокотоксичных доз REDOX-дендримера и DOX оценивали по результатам горизонтального электрофореза в агарозе (0,9%).

Результаты и выводы. Наиболее чувствительными к REDOX-дендримеру оказались клетки хомячков (IC_{50} равна $4-7 \times 10^{-9}$ М). Различаясь по базальному уровню экспрессии каталазы, линии показали ожидаемые закономерности: IC_{100} (ХЭТР-N-gas) < IC_{100} (СНО-К1) < IC_{100} (ХЭТР-SR). Это соответствует известной роли данного фермента в антиоксидантной защите. Для лейкозных клеток человека (K562 и K562/iS9) IC_{50} составила $1,5-3 \times 10^{-5}$ М. В отличие от DOX, индекс резистентности (IR) которого равен 20, чувствительность линий K562 и K562/iS9 к REDOX-дендримеру различалась только в 2 раза (IR=2), что исключает МЛУ к новому соединению. Результаты электрофореза показали, что инкубация клеток СНО-К1 в течение 3-х дней с высоко токсичными дозами REDOX-дендримера ($7,6-15 \times 10^{-6}$ М) и DOX ($1,7-3,5 \times 10^{-8}$ М) приводила к сходному разрушению геномной ДНК (кроме высокомолекулярного фрагмента были две четкие полосы в 1,3 и 0,9 KDa). Таким образом, ДНК, несомненно, является одной из внутриклеточных мишеней REDOX-дендримера, который обладает выраженной цитотоксической активностью в системе *in vitro*. REDOX-дендример может послужить основой для разработки новых противоопухолевых препаратов.

Т.С. Ступина¹, И.И. Малова², И.В. Балалаева², Н.А. Санина¹, А.А. Терентьев¹

ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

НИТРОЗИЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ЖЕЛЕЗА С ТИОФЕНОЛИЛОМ

¹Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка

²Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород

Железосерные кластеры широко распространены в живой природе. Белки, содержащие железосерные кластеры, обнаруживаются у всех живых организмов, от бактерий до млекопитающих. Нарушение сборки железосерных кластеров и функций железосерных белков приводит к возникновению заболеваний, связанных с нарушением энергопродукции, дисфункцией митохондрий и антиоксидантной системы.

Монооксид азота обладает широким спектром биологического действия, поскольку взаимодействует с самыми разными молекулами и изменяет активность многих ферментов. Влияние монооксида азота на такие процессы, как клеточное деление и клеточная гибель, его участие в окислительном стрессе и внутриклеточной передаче сигнала создает основу для возможного применения NO доноров для терапии различных заболеваний, включая онкологические. Нами были исследованы цитотоксические свойства NO-донора – нитрозильного [2Fe-2S] комплекса с фенильными лигандами (комплекс Ph). Показана NO-донирующая способность комплекса Ph и исследована его цитотоксичность для опухолевых клеток разных линий. Показано, что комплекс Ph вызывает гибель опухолевых клеток HeLa и H1299. При использовании комплекса Ph в комбинации с цисплатином показан синергизм их цитотоксического действия. Исследование каспазозависимой деградации поли(АДФ-рибоза)-полимеразы показало, что гибель клеток HeLa при действии комплекса Ph происходит по механизму апоптоза. В клетках MCF7 комплекс Ph вызывает индукцию экспрессии белка p53 и изменение его молекулярной массы.

А.С. Тихомиров¹, А.Е. Щекотихин¹, Л.Г. Деженкова², А.А. Штиль²

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРОИЗВОДНЫХ АНТРАФУРАНДИОНА, СОДЕРЖАЩИХ КАРБОКСАМИДНУЮ ГРУППУ В ПОЛОЖЕНИИ 2

¹ФГБУ НИИНА им. Г.Ф. Гаузе РАМН, Москва

²ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Введение. Ранее был описан ряд производных 2-алкил-4,11-диаминоантра[2,3-*b*]фуран-5,10-диона и показана важная роль заместителя в положении 2 в способности блокировать внутриклеточные мишени и цитотоксических свойствах.

Цель работы. Исследование влияния карбоксамидной группы в положении 2 производных 4,11-диаминоантра[2,3-*b*]фуран-5,10-диона на цитотоксические свойства.

Материалы и методы. Новые производные 4,11-диаминоантра[2,3-*b*]фуран-5,10-дион-2-карбоксамида (ЛХТА-2041, 2042) были синтезированы из соответствующей кислоты, описанной ранее (А.С. Тихомиров и др., ХГС. 2011. С. 1464). Ингибирование топоизомеразы I (топо I, Promega, USA) определяли в реакции релаксации суперскрученной ДНК (плазмида pBR₃₂₂, Fermentas, Литва). Цитотоксичность соединений определяли на линиях клеток HeLa и Т-лимфоцитах человека (СЕМ). Влияние на активность теломеразы исследовали методом TRAP-assay.

Результаты. Установлено, что введение карбоксамидной группы в положение 2 производных 4,11-диаминоантра[2,3-*b*]фуран-5,10-диона приводит к снижению цитотоксичности ЛХТА-2041, 2042 более чем на два порядка (>100 мкМ), по сравнению с 2-метильным аналогом (ЛХТА-1816). Уменьшение цитотоксических свойств этих соединений, видимо, связано со снижением ингибирующей активности внутриклеточной мишени – топо I, поскольку введение карбоксамидной группы значительно снижает активность ингибирования топо I. Аналогично снижение активности наблюдается и в отношении другой потенциальной мишени 4,11-диаминоантра[2,3-*b*]фуран-5,10-дионов – теломеразы. Однако, обнаружено, что введение карбоксамидной группы в положении 2 приводит к увеличению противовирусной активности антрафурандиона в отношении Coxsackie B4 вируса и вируса простого герпеса, резистентного к ацикловиру. Так, противовирусная активность (EC₅₀) производного ЛХТА-2042 превышает активность ацикловира и рибавирина на 1-2 порядка.

Выводы. Введение карбоксамидного заместителя в положение 2 производных 4,11-диаминоантра[2,3-*b*]фуран-5,10-диона приводит к снижению цитотоксических свойств и появлению противовирусной активности.

А.М. Торчинов, М.М. Умаханова, Р.А. Дуванский, Э.Т. Садуллаева, М.А. Аубекирова

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ В ЛЕЧЕНИИ ДИСПЛАЗИЙ ШЕЙКИ МАТКИ

ГБОУ ВПО МГМСУ, Московская область, Одинцово

Задачи исследования. Оценить эффективность лазерной фотодинамической терапии (ФДТ) в лечении больных с дисплазией шейки матки.

Материалы и методы. Нами обследовано 92 пациентки с дисплазией шейки матки различной степени тяжести: легкая (СIN I) – у 30 (32,6%) больных, умеренная (СIN II) – 43 (46,7%) пациентки и тяжелая (СIN III) – 19 (20,7%) обследованных. Обследование больных включало в себя: клиническое обследование; кольпоскопическое, микробиологическое, цитологическое и гистологическое исследования. Флуоресцентное детектирование проводилось методом локальной спектроскопии. Для этой цели использовали спектрально-флуоресцентную диагностическую установку «Спектр-«Кластер»» (ООО «Кластер», ИОФ РАН, Москва). Произведено лечение дисплазии шейки матки различной степени тяжести следующими методами: диатермоэлектромконизация (ДЭК) – 21 больной с дисплазией шейки матки умеренной и тяжелой степени: с СIN II – у 12, с СIN III – у 9; радиолечение – 17 пациенткам с СIN I – 11 больным и СIN II – 6 пациенткам; радиоволновая хирургия не применялась у больных с тяжелой степенью дисплазии (СIN III) в связи с техническими ограничениями метода; ФДТ с применением фотосенсибилизатора фотодитазин у 18 пациенток: с СIN I – 9 больных и СIN II – 9 пациенток; ФДТ с применением фотосенсибилизатора радахлорин – 36 пациенткам с дисплазией шейки матки: у 10 больных – с СIN I, в 16 наблюдениях – с СIN II, в 10 наблюдениях – с СIN III. ФДТ с ФС радахлорин проводили с использованием лазерного аппарата МИЛОН ЛАХТА с лазерным излучением в непрерывном режиме, длиной волны на выходе 662 нм, мощностью на выходе – 1 Вт, плотностью – 80 – 250 Дж/см. ФДТ проводилась в I фазу менструального цикла, не требовала проведения анестезии. Сеанс ФДТ проводился через 2 часа после в/в введения ФС фотодитазин в дозе 0,5 мг/кг веса в 400 мл физиологического раствора.

Результаты. Эффективность различных методов лечения СIN составила 89-95%. Эффективность ДЭК – 95%, радиолечения – 94%, ФДТ с использованием фотосенсибилизатора фотодитазин – 89%, ФДТ с фотосенсибилизатором радахлорин – 94%.

Выводы. Фотодинамическая терапия с использованием фотосенсибилизатора радахлорин с учетом данных локальной флуоресцентной спектроскопии является эффективным методом лечения больных с дисплазией шейки матки.

А.П. Трашков, А.В. Панченко, Д.А. Малышева, А.В. Андреева

ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТИВНЫЙ ЭФФЕКТ ГЕПАРИНА ПРИ РАЗВИТИИ ЛИМФОСАРКОМЫ ПЛИССА

ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия» Минздрава России, Санкт-Петербург

Развитие нарушений системы гемостаза при злокачественных опухолях, нередко приводящее к летальному исходу, ставит вопрос о методах их коррекции. Показано, что большой эффективностью для профилактики и лечения тромбозомболических осложнений онкологических заболеваний обладают антикоагулянты прямого действия и, в частности, гепарины. Несмотря на большое количество работ по данной теме, вопросы влияния гепарина на состояние стенки кровеносных сосудов рассмотрены недостаточно и нуждаются в дополнительных исследованиях.

Задачи исследования. Изучить функциональное состояние эндотелия кровеносных сосудов у животных с перевиваемыми опухолями при коррекции нарушений системы гемостаза нефракционированным гепарином.

Материалы и методы. Работа выполнена на 60 белых беспородных крысах-самцах массой тела 185 – 200 г. Опухолевый процесс моделировали подкожной перевивкой лимфосаркомы Плисса (ЛФС) в дозе 550 кл/0,1 мл физиологического раствора. Животные были разделены на 3 группы: «Контроль» (n = 20) – интактные крысы, «ЛФС» (n = 20) – крысы с ЛФС, «Гепарин» (n = 20) – крысы с ЛФС, которым вводился гепарин-натрий (два раза в сутки по 250 МЕ/кг в течение 15 суток с дня перевивки). Оценку состояния эндотелия сосудов проводили на 15 сутки эксперимента. Определяли в крови количество циркулирующих эндотелиоцитов (ЦЭЦ) и концентрации эндотелина-1 (ЭТ-1), тканевого активатора плазминогена (tPA) и ингибитора активатора плазминогена I-го типа (РАI-1).

Результаты. Количество ЦЭЦ в крови крыс группы «Гепарин» было выше, чем в группе «Контроль» (p<0,01) и ниже, чем в группе «ЛФС» (p<0,001) (65,0±3,15 кл/мл, 45,1±3,3 кл/мл и 109,3±3,8 кл/мл соответственно). При этом концентрация ЭТ-1 не отличалась от контрольной группы и была ниже, чем в группе «ЛФС» (p<0,001) (1,50±0,24 фмоль/мл, 1,19±0,22 фмоль/мл и 3,05±0,31 фмоль/мл соответственно). Концентрация tPA была ниже, чем в группе «Контроль» (p<0,001) и выше, чем в группе «ЛФС» (p<0,001) (0,49±0,10 нг/мл, 0,70±0,05 нг/мл и 0,30±0,06 нг/мл, соответственно). Содержание РАI-1 в исследованных группах статистически не отличалось.

Выводы. Применение гепарина оказывает эндотелиопротективное действие, заключающееся в снижении активности сосудистого компонента системы гемостаза, у крыс с лимфосаркомой Плисса.

Е.М. Трещалина¹, Н.В. Андропова¹, И.Д. Трещалин², Э.Р. Переверзева², М.И. Трещалин², А.Л. Николаев³
**ЭФФЕКТИВНОСТЬ И БЕЗОПАСНОСТЬ ТЕРМОХИМИОТЕРАПИИ
 С ЛОКАЛЬНОЙ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ГИПЕРТЕРМИЕЙ И ИФОСФАМИДОМ
 В СОЧЕТАНИИ С УРОПРОТЕКТОРОМ БИКАРБОНАТОМ НАТРИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

¹ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

²ФГБУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе» РАМН, Москва

³МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Введение. Доклиническое изучение эффективности и безопасности термохимиотерапии (ТХТ) с использованием локальной ультразвуковой гипертермии (УЗ-ГТ) и химиотерапии ифосфамидом (Иф) в сочетании с уропротектором бикарбонатом натрия (БН) необходимо для включения данной схемы в Протокол клинического изучения установки УСДТм, проходящей клинические испытания в РОНЦ по Протоколу №01/2008-ГТ «Изучение безопасности локальной ультразвуковой гипертермии с помощью модифицированной установки УСДТ» (1 фаза) для медицинской сертификации устройства в гипертермическом режиме эксплуатации.

Цель исследования. Оценить целесообразность и безопасность проведения УЗ-ГТ на установке УСДТм при использовании схем химиотерапии с Иф и специфическим уропротектором БН.

Материалы и методы. Использованы мыши BDF1 (питомник «Столбовая») с в/м меланомой В16 и здоровые крысы (питомник «Крюково»). Опыт по оценке эффективности: объем опухоли $V_{1\text{курс}}=0,8\pm 0,05 \text{ см}^3$; $V_{2\text{курс}}=1,1\pm 0,07 \text{ см}^3$ (интервал 6 дн.); БН в/в 500 мг/кг за 15 мин до Иф в/б 200x2 мг/мг, через 3 ч УЗ-ГТ 41,5°C 6 мин. Критерии стандартные: Vt/V_0 , двукратная задержка роста опухоли τ_2 и коэффициент усиления эффекта К. Опыт по оценке безопасности: БН в/в 500 мг/кг за 30 мин до Иф в/б 80 мг/кгx5 (~МПД), через 3 ч УЗ-ГТ и за 15 мин «золетил 100» п/к 25 мг/кг. Показатели токсичности стандартные. Стат. обработка: $M[\pm d]$, различия достоверны при $p\leq 0,05$.

Результаты. 2 курса ТХТ (УЗ-ГТ+БН+Иф) в сравнении с одним Иф при удовлетворительной переносимости дает достоверное 11-кратное усиление противоопухолевого эффекта: $\tau_2=17$ дн. против 3 дн., $K=11,3$ против 2,0. По показателям токсичности эта схема не проявляет уро-, гепато- и гематотоксичности и не оказывает отрицательного влияния на общее состояние и поведение животных.

Заключение. Схемы ТХТ с Иф и уропротектором БН могут быть дополнительно включены в Протокол №01/2008-ГТ, раздел «Режим воздействия» для лечения сарком мягких тканей. Тема поддерживается Правительством Москвы.

Н.П. Фадеев, Р.И. Харисов, Ю.И. Пустовалов

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ЭФФЕКТА
 ФЕНИЛБУТИРАТА НАТРИЯ – ИНГИБИТОРА ДЕАЦЕТИЛАЗЫ ГИСТОНОВ**

ФГУ "Российский научный центр радиологии и хирургических технологий" Минздрава России, Санкт-Петербург

В последние годы одним из перспективных классов малотоксичных противоопухолевых препаратов являются ингибиторы деацетилазы гистонов (HDAC). Одним из представителей данного класса, привлекающим внимание онкологов является натриевая соль фенолмасляной кислоты – фенолбутират натрия.

Цель исследования – экспериментальная оценка противоопухолевого эффекта фенолбутирата натрия (ФБ) на солидной опухоли Эрлиха.

Материалы и методы. Исследование проводилось на 40 половозрелых самках беспородных мышей весом 25 ± 5 г, которым опухоль Эрлиха в виде суспензии, содержащей 10^7 опухолевых клеток в 0,2 мл 0,9% раствора натрия хлорида, была перевита п/к в бедренную часть задней лапы. Животные были разделены на 4 группы (по 10 особей). 1 группа (контрольная) получала обычную питьевую воду в неограниченном количестве. 2, 3 и 4 группы (опытные) – водный раствор ФБ в дозах 400 мг/кг/сутки, 800 мг/кг/сутки и 1200 мг/кг/сутки вместо питьевой воды. Препарат давали через 48 ч после перевивки в течение 21 дня. Критериями оценки противоопухолевого эффекта служили: процент торможения роста опухоли (ТРО, %) и увеличение продолжительности жизни (УПЖ, %) в сравнении с контролем. Наблюдение за животными продолжалось до их гибели. Полученные результаты подвергали статистической обработке. Состояние кроветворения изучалось на 20 беспородных крысах-самцах. Для гематологического исследования кровь брали из хвостовой вены крысы до и после окончания лечения фенолбутиратом.

Результаты. Во 2 группе выраженный эффект наблюдался на 7 день опыта: ТРО=65%, $p<0,05$. В 3 опытной группе противоопухолевый эффект был наиболее выражен – на 7, 11, 17 и 21 день опыта, ТРО составило 63%, 68%, 69% и 74% соответственно ($p<0,05$). В 4 группе препарат тормозил рост опухоли на 7 и 21 сутки, ТРО=83% и 51% соответственно ($p<0,05$). Увеличение продолжительности жизни наблюдалось в группах получавших ФБ в дозе 800 и 1200 мг/кг/сутки, УПЖ=32% и 32% соответственно ($p<0,05$). Результаты изучения гематоксичности ФБ показали, что вводимые дозы препарата, не выявили различий в гематологических показателях периферической крови подопытных животных по сравнению с контрольными. Кроме того, в течение всего эксперимента не наблюдалось каких-либо видимых изменений в их поведении.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют об отчетливом противоопухолевом эффекте ФБ и его малой токсичности

И.И. Файнгольд¹, А.И. Котельников¹, Р.А. Котельникова¹, В.С. Романова²

РЕЛАКСАЦИОННЫЕ СВОЙСТВА ЭНДОМЕТАЛЛОФУЛЛЕРЕНОВ ГАДОЛИНИЯ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ КОНТРАСТИРУЮЩИХ СОЕДИНЕНИЙ ДЛЯ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ ТОМОГРАФИИ

¹Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка

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

Задачи исследования. Изучение влияния водорастворимых эндометаллофуллеренов гадолиния (ЭМФГ) на эффективность протонной релаксации в водных растворах с целью их использования в качестве контрастирующих соединений в медицинской ЯМР-томографии.

Материалы и методы. В работе исследованы впервые синтезированные водорастворимые ЭМФГ: Gd@C₈₂(OH)_x, Gd@C₈₂-H Pro, Gd@C₈₂-Hydroxyethyl Pro, Gd@C₈₂-Maleimide Pro. Релаксационную способность водорастворимых ЭМФГ определяли по их влиянию на время спин-решеточной релаксации протонов воды в ЯМР спектрометре AVANCE III 500 MHz.

Результаты. В работе представлены релаксационные свойства малотоксичных (in vivo) водорастворимых ЭМФГ, содержащих внутри углеродного каркаса парамагнитный атом гадолиния. Атомы гадолиния, взаимодействуя со сфероидом фуллерена, существенно снижают времена релаксации контактирующих с ними протонов. Коэффициенты релаксации R для водных растворов Gd@C₈₂(OH)_x, Gd@C₈₂-H Pro, Gd@C₈₂-Hydroxyethyl Pro, Gd@C₈₂-Maleimide Pro составили соответственно 1,976 л/ммоль·с, 0,945 л/ммоль·с, 0,757 л/ммоль·с, 1,091 л/ммоль·с. Релаксационная способность водорастворимых ЭМФГ сопоставима с контрастирующим коммерческим препаратом «магневист» (R=2,041 л/ммоль·с), применяемого в магнитно-резонансной томографии (МРТ).

Выводы. Исследуемые ЭМФГ водорастворимы, обладают сопоставимыми с контрастирующим коммерческим препаратом «магневист» релаксационными свойствами и низкой токсичностью (in vivo), что повышает привлекательность их применения в качестве контрастирующих соединений для МРТ диагностики.

Благодарности: И.Е. Карееву, В.П. Бубнову и Е.Б. Ягубскому за синтез Gd@C₈₂, В.Е. Мурадян и А.А. Арбузову за синтез Gd@C₈₂(OH)_x, А.В. Черняку за помощь в проведении ЯМР-исследований.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума РАН № 22 и РФФИ (проект 10-03-00687).

Е.Н. Филатова¹, А.Д. Перенков¹, Д.В. Новиков¹, А.Ю. Барышников², В.В. Новиков¹
ПОЛНОРАЗМЕРНАЯ И АЛЬТЕРНАТИВНАЯ ФОРМЫ МРНК ГЕНА CD38 В КЛЕТКАХ ПЕРЕВИВАЕМЫХ ЛИНИЙ, ПОЛУЧЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ РАКОМ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА

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

²ФГБУ «РОИЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Ген CD38 кодирует трансмембранный гликопротеин второго типа, который обнаруживается на многих типах клеток, катализирует образование циклической АДФ-рибозы, а также выполняет функцию молекулы адгезии. Показано, что наряду с мРНК, кодирующей полноразмерную форму молекулы CD38, образуется альтернативная форма мРНК CD38 с делецией 3-го экзона размером в 136 н.о. Предполагается, что альтернативный вариант мРНК является регуляторным по отношению к полноразмерной форме.

Задачи исследования. Изучить особенности экспрессии гена CD38 в злокачественно трансформированных клетках на моделях клеточных линий, имеющих происхождение от опухолевых клеток больных раком толстого кишечника.

Материалы и методы. В работе были использованы клеточные линии: Caco-2, Colo-205, SW-620, T-84, НСТ15, НСТ116, полученные из банка клеток РОИЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. Анализ экспрессии полноразмерной и альтернативной форм мРНК гена CD38 в клетках проводили с помощью двух-раундовой ОТ-ПЦР с использованием праймеров, разработанных авторами. Результаты ОТ-ПЦР оценивали методом электрофореза в 2% агарозном геле. Клетки линии НСТ-15 культивировали в течение 7 суток с последующим анализом характера экспрессии гена CD38.

Результаты и выводы. В клеточных линиях Caco-2 и SW-620 мРНК гена CD38 не выявлялась, в то время как в клеточных линиях Colo-205, T-84, НСТ15 и НСТ116 обнаруживалась полноразмерная форма мРНК CD38. В клетках линии НСТ15 и Colo-205 наряду с полноразмерной формой была детектирована и альтернативная форма мРНК гена CD38. Культивирование клеток НСТ15 в течение 7 суток не приводило к изменению спектра вариантов мРНК гена CD38. Вероятно, наличие альтернативной формы в клетках линий НСТ15 и Colo-205 является молекулярно-биологической особенностью этих клеток, связанной с регуляцией их пролиферации.

Н.В. Филатова¹, Е.И. Сидоренко¹, В.В. Филатов¹, Г.В. Пономарёв², М.В. Муравьев³

ПРИМЕНЕНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ПРЕПАРАТОМ ФОТОДИТАЗИН ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НЕОВАСКУЛЯРИЗАЦИИ РОГОВИЦЫ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

¹*Кафедра офтальмологии педиатрического факультета ГБОУ ВПО РНИМУ Росздрава, Москва*

²*Институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича РАМН, Москва*

³*ООО «Панков-Медикл», Москва*

Цель исследования. Изучение эффективности ФДТ при заболеваниях роговицы, сопровождающихся неоваскуляризацией у детей.

Материалы и методы. 12 детей (18 глаз) в возрасте от 3 до 12 лет с неоваскуляризацией роговицы различного генеза. Сеанс ФДТ с гелевой формой фотодитазина проведен аппаратом «АСТ» (ООО «Панков-Медикл», Москва) с длиной волны 400 нм и световой мощностью 50 Дж/см² на одно поле воздействия. Эффективность терапии оценивалась визометрией, биомикроскопией и проведением компьютерной денситометрией.

Результаты и обсуждение. Все дети процедуру ФДТ перенесли хорошо. Послеоперационный период протекал без особенностей. Через 1 мес. после одного сеанса ФДТ у 9 детей (14 глаз) (77,78 %) получена полная облитерация неоваскулярных сосудов, у 3 (4 глаза) (22,22 %) – неоваскуляризация уменьшилась более, чем на 50 %. Через 3 мес. положительный эффект терапии сохраняется у всех 12 детей в полном объеме.

При денситометрии, среднее значение оптической плотности роговицы в очагах помутнений до лечения составило 126,8±16,0 относительных единиц. После лечения оптическая плотность уменьшилась в среднем до 99,7±13,9 единиц. Через 1 месяц после проведения ФДТ у всех пациентов отмечено повышение остроты зрения (ОЗ): у 2-х пациентов с минимальными значениями ОЗ с движения руки у лица до 0,1; у 3-х человек – с 0,7 до 1,0 и у остальных 7 больных – с 0,2 до 0,6, что в среднем составило повышение остроты зрения во всей группе наблюдения с 0,45 ± 0,28 до 0,6 ± 0,36. Достигнутая ОЗ, сохранялась на прежнем уровне после 3 мес. срока наблюдения.

Выводы. Таким образом, первые положительные результаты применения ФДТ с гелевой формой препарата фотодитазин в детской офтальмологии позволяют считать его перспективным и рекомендовать данный метод для широкого применения в офтальмологии у детей и подростков с заболеваниями роговицы, сопровождающимися её помутнением и неоваскуляризацией.

Д.В. Филоненко, М.Б. Бычков, В.А. Горбунова, Е.М. Трещалина, Г.К. Герасимова

РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ I-II ФАЗЫ КАТАЛИТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ТЕРАФТАЛ+АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА У БОЛЬНЫХ ОПУХОЛЕВЫМИ ПЛЕВРИТАМИ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Введение. Бинарная каталитическая система (БКС) терафтал+аскорбиновая кислота (ТФ+АК), показавшая в эксперименте противоопухолевые и плевросклерозирующие свойства при внутривидеальном (в/пл) введении проходила в РОНЦ контролируемое открытое исследование безопасности и эффективности при лечении пациентов с опухолевыми плевритами (ОП). Результаты составили предмет настоящего сообщения.

Цель исследования. Оценить перспективность клинического применения БКС ТФ+АК при лечении больных с ОП.

Материалы и методы. В исследовании 23 пациента с верифицированным ОП, получавших ТФ+АК в/пл однократно в широком диапазоне доз. Эскалация доз ТФ+АК выполнена до 450% от стартовых, составивших 444+977 мг/м². Оценка безопасности и эффективности проведена по стандартным критериям для ОП с учетом особенностей побочных эффектов БКС. Проведение внутривидеальной процедуры выполняли по традиционному способу с предварительным обезболиванием и дренированием плевральной полости.

Результаты. Оценка безопасности у 10 больных с ОП показала, что ТФ+АК при в/пл введении в дозах <247+543 мг/м² не вызывает серьезных побочных эффектов. При равных или больших дозах выявлены обратимые побочные эффекты: окрашивание мочи в синий цвет (100%); дозозависимый болевой синдром в области грудной клетки (70%), купирующийся стандартными анальгетиками; умеренная лихорадка (20%); умеренная гипотония (10%). МПД составляют для ТФ 444 мг/м², для АК - 977 мг/м². Оценка эффективности у 13 больных показала, что ТФ+АК в дозах 100-450% от стартовой дает объективный эффект лечения в виде ЧР=86% с осумкованием и прекращением накопления плеврального выпота. У 14% пациентов получено прогрессирование ОП, возникающее на фоне вторичного накопления плеврального выпота при высоких дозах препаратов.

Заключение. При клиническом исследовании у пациентов с опухолевым плевритом бинарная каталитическая система терафтал+аскорбиновая кислота в дозах 247+543 мг/м² безопасна и дает возможность получить частичные ремиссии в 86% случаев. Плевросклерозирующая каталитическая терапия, активным началом которой являются токсичные гидроксильные радикалы, может применяться у больных с плевритами, не поддающихся системной химиотерапии при устойчивых опухолях.

А.А. Фильченков¹, М.П. Завелевич¹, С.Л. Рыбалко², Д.Ю. Блохин³

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЦИТОПАТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ВИРУСА ПРОСТОГО ГЕРПЕСА ЧЕЛОВЕКА НА КЛЕТКИ JURKAT/A4 Т-ЛИМФОБЛАСТНОГО ЛЕЙКОЗА С ФЕНОТИПОМ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ

¹ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев

²НИИ эпидемиологии и инфекционных заболеваний АМН Украины, Киев

³ФГБУ «РОИЦ им. Н.Н. Блохин» РАМН, Москва

Введение. Один из возможных механизмов множественной лекарственной резистентности (МЛР) опухолевых клеток заключается в дефектах реализации в них апоптоза. Апоптоз является одним из механизмов элиминации клеток, инфицированных вирусами, в частности вирусом простого герпеса (ВПГ). Представляло интерес определить потенциал реализации эффекторных путей апоптоза при заражении ВПГ клеток с фенотипом МЛР, в которых не происходит заметной индукции апоптоза под влиянием химиотерапевтических препаратов.

Цель исследования. Сравнить чувствительность к ВПГ клеток Т-лимфобластного лейкоза человека линии Jurkat и ее клональной сублинии Jurkat/A4 с фенотипом МЛР.

Материалы и методы. Использовали клональную сублинию Jurkat/A4 полученную методом селекции при инкубации CD95⁺ клеток Т-лимфобластного лейкоза человека линии Jurkat с агонистическими анти-CD95 антителами (А. Соколовская с соавт., 2001). В работе использован штамм ВПГ 2-го типа (ГУ НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН). ВПГ титровали по цитопатогенному действию на клетках Vero. Учет результатов титрования проводили на 3-е сутки. Клетки Jurkat и Jurkat/A4 инфицировали в дозе 3 lgИД₅₀ и 2 lgИД₅₀. Содержание гиподиплоидных клеток определяли с помощью цитофлуориметра "FACSCalibur" ("Becton Dickinson", США). Активную форму каспазы-3 выявляли с помощью набора "Caspase-3, Active Form, mAb Apoptosis Kit: FITC" ("BD Bioscience Pharmingen", США).

Результаты. Клетки Jurkat и Jurkat/A4 оказались чувствительными к инфицированию ВПГ. По данным титрования на клетках Vero титр ВПГ при заражении клеток Jurkat и Jurkat/A4 составил, соответственно, 10⁻³ и 10^{-4,5}. Инфицирование ВПГ увеличивало содержание гиподиплоидных клеток примерно на 30 % в культуре Jurkat и 25 % в культуре Jurkat/A4. Индукция апоптоза вирусом герпеса в клетках Jurkat и Jurkat/A4 сопровождалась увеличением содержания клеток с активной формой каспазы-3.

Выводы. Клетки Jurkat и Jurkat/A4 дают продуктивную инфекцию при заражении вирусом герпеса, что сопровождается индукцией каспазо-зависимого апоптоза. Следовательно, эффекторные механизмы апоптоза в клетках Jurkat/A4 с фенотипом МЛР не заблокированы.

Е.М. Франциянц, Л.Ю. Владимирова, Е.Ф. Комарова

ОСОБЕННОСТИ СВЯЗЫВАНИЯ ДОКСОРУБИЦИНА С БЕЛКАМИ ПЛАЗМЫ КРОВИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России, Ростов-на-Дону

Задачи исследования. Выяснение процессов в белках плазмы крови после ее инкубации с доксорубицином.

Материалы и методы. Исследовали выделенные из плазмы крови 20 больных раком молочной железы T₂₋₄ N₁₋₂ M₀ альбуминовые и глобулиновые фракции. Использовали две модельные системы: нативную плазму крови, инкубированную с доксорубицином-ЛЭНС (Россия) в дозе 100 мкг/мл и размороженную плазму крови, инкубированную с доксорубицином в дозе 100 мкг/мл.

Результаты и выводы. Показано, что при инкубации с нативной плазмой крови цитостатик связывается именно с фракцией альбумина. При этом количество связавшегося с альбумином препарата составляло 80,1±5,8 % от его исходного количества (p<0,05). Снижение уровня сульфгидрильных групп (SH-групп) в альбумине составило 29 %, что говорит об использовании их лишь на треть. При исследовании индекса ароматичности молекулы альбумина не было отмечено его снижение. Изучение молекул средней массы, а также содержание свободных NH₂-групп, выявило увеличение после инкубации этих показателей в 7,4 раз и в 2,7 соответственно, что указывало на фрагментацию молекул альбумина, происходящую в процессе инкубации. Принципиально другая последовательность событий происходила при инкубации размороженной плазмы крови с доксорубицином: для связывания химиопрепарата также использовалась фракция альбумина, с которой связывалось 87,1±2,2 % от его исходного количества. Однако количество свободных SH-групп альбумина после инкубации снизилось лишь на 12,2 % по сравнению с показателем до инкубации, что в 2,4 раза меньше, чем в случае использования нативной плазмы. При исследовании индекса ароматичности молекулы альбумина было отмечено его снижение на 22,3 % именно после инкубации, т.е. цитостатик соединялся с молекулой альбумина в двух лекарствосвязывающих участках. Содержание молекул средней массы и свободных NH₂-групп, не изменялось после инкубации, т.е. связывание с альбумином размороженной плазмы не вызывало фрагментацию белка. Использование модельных систем дает возможность сравнить действие нативного и подверженного воздействию цитостатиком белка и сделать выводы о механизмах их действия.

Е.М. Францияни, Е.Ф. Комарова, М.И. Верескунова

СОСТОЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ОПУХОЛЕВЫХ МАРКЕРОВ АНГИОГЕНЕЗА И ПРОЛИФЕРАЦИИ В ТКАНИ ОПУХОЛЕЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

ФГБУ «РНИОИ» Минздравсоцразвития РФ, Ростов-на-Дону

Задачи исследования. Изучить состояние тканевых факторов роста доброкачественных и злокачественных опухолей молочной железы и матки в самостоятельном варианте и при их сочетании.

Материалы и методы. У менопаузальных женщин исследовали содержание VEGF и EGF в образцах тканей: солитарных злокачественных опухолей молочной железы (РМЖ) (n=24) и эндометрия (n=21), узловой формы фиброзно-кистозной мастопатии (n=15) и миомы матки (n=14), а также при синхронно развивающемся раке молочной железы и миомы матки (n=12). В качестве контроля использовали ткань МЖ (n=16), полученную во время операций по поводу редукции МЖ и отдаленную от опухоли ткань эндометрия, полученную при оперативном лечении больных миомой матки (n=14).

Результаты и выводы. Уровень VEGF в ткани эндометрия был в 2,2 раза выше, чем в ткани миометрия. Изученный показатель был также повышен в ткани первичных злокачественных опухолей тела матки в 2,6 раза относительно показателя в интактном эндометрии. А в ткани миомы матки, напротив, был снижен на 14,5 % относительно ткани интактного миометрия. Однако при синхронном развитии миомы матки и РМЖ содержание VEGF в ткани миомы превышало контрольные значения в 2 раза. Содержание EGF в ткани РМЖ было повышено при первично одиночном процессе в 22,8 раза, а в ткани РМЖ при синхронно развивающейся доброкачественной опухоли в матке, этот показатель превышал значения в интактной ткани молочной железы в 28,5 раза. Содержание EGF в ткани рака эндометрия не имело достоверно значимых отличий от контрольных значений. Тогда как в ткани миомы уровень EGF зависел от того, выявляется миома матки в условиях опухолевого организма, или нет. Так в ткани первичной миомы матки содержание EGF было снижено относительно ткани интактного эндометрия на 33,2 %, а в ткани миомы, растущей в организме больных раком молочной железы, напротив, показатель в 2 раза превышал нормативные значения. Т.о., анализ показал, что EGF имеет прямое влияние на содержание VEGF в ткани миомы матки вне зависимости от того, развивается ли она на фоне РМЖ или нет, а также в ткани злокачественной опухоли самой молочной железы. Не подтвержден механизм активации VEGF эпидермальным фактором роста в ткани рака эндометрия.

Е.М. Францияни, Ф.Р. Джабаров, Л.Я. Розенко, Е.Ф. Комарова, М.Б. Козлова

СОСТОЯНИЕ МЕЛАТОНИНОБРАЗУЮЩЕЙ ФУНКЦИИ У БОЛЬНЫХ ДИССЕМИНИРОВАННОЙ МЕЛАНОМОЙ КОЖИ И ЕЕ ДИНАМИКА ПОД ВЛИЯНИЕМ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ

ФГБУ «РНИОИ» Минздравсоцразвития РФ, Ростов-на-Дону

Задачи исследования. Изучить содержание 6-сульфатоксимелатонина (6-SOM) у пациентов с диссеминированной меланомой кожи в динамике комплексного лечения.

Материалы и методы. В крови 47 больных с диссеминированной меланомой до и после комплексного лечения, включающего ДГТ в режиме ускоренного гиперфракционирования дозы (РОД=равной 1,3 Гр, СОД=60,0±5,2 Гр), дополненного аутомиелохимиотерапией с дакарбазином-ЛЭНС, определяли уровень 6-SOM. В качестве контроля были выбраны 37 практически здоровых доноров соответствующего возраста и пола.

Результаты и выводы. Было обнаружено, что мелатонинообразующая активность у больных с диссеминированной меланомой кожи по сравнению со здоровыми донорами была снижена, при разной степени ее ингибирования: в 52,9 % случаев секреция гормона была в 3,8 раза ниже нормы, в 29,4 % больных - снижена в 1,8 раза, а в 17,7 % случаев оставалась на уровне контроля. Определение содержания 6-SOM у больных, получивших комплексное лечение, выявляет еще более выраженную по сравнению с этапом до лечения неоднородность показателей его уровня. В большинстве наблюдений уровень гормона оставался в разной степени сниженным, причем у 38,9 % отмечена почти пятикратная его недостаточность относительно контроля. Главное отличие с фоновым статусом гормона было в том, что у 16,7 % обследованных после проведенного лечения статистически достоверно превышал норму в 1,8 раза. В связи с обнаруженными различиями в реакции мелатонинпродуцирующей активности на комплексное лечение был проведен анализ показателей концентраций 6-SOM в зависимости от его эффективности: у больных, у которых удалось достичь полной резорбции опухоли, данный эффект всегда сочетался с повышением или нормальным уровнем 6-SOM. Мелатониновая недостаточность сопряжена с данной опухолевой патологией, механизмом которой может являться снижение на фоне патологического процесса концентрации исходного субстрата и/или нарушение его захвата гормонообразующими клетками, а также функциональными сбоями на уровне регуляции со стороны ферментативного или нейромедиаторного звена. Мелатонинпродуцирующая функция организма вовлечена в механизм развития максимального положительного эффекта лечения у больных с диссеминированной меланомой кожи.

Е.М. Францияни, Ф.Р. Джабаров, Л.Я. Розенко, Е.Ф. Комарова, М.Б. Козлова

ПОЛОВЫЕ И ГОНАДОТРОПНЫЕ ГОРМОНЫ В КРОВИ МУЖЧИН С ДИССЕМИНИРОВАННЫМИ ФОРМАМИ МЕЛАНОМЫ КОЖИ В РАМКАХ КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ

ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России, Ростов-на-Дону

Задачи исследования. Изучить состояние стероидного звена гормонального статуса крови у больных диссеминированной меланомой кожи в динамике комплексного лечения.

Материалы и методы. В крови 47 больных мужчин с диссеминированной меланомой до и после комплексного лечения, включающего ДГТ в режиме ускоренного гиперфракционирования дозы (РОД= равной 1,3 Гр, СОД= 60,0±5,2 Гр), дополненного аутомиелохимиотерапией с дакарбазином-ЛЭНС, определяли активность эстрадиола (Э₂), тестостерона (Т), прогестерона (Р₄), пролактина (ПРЛ), ЛГ и ФСГ. В качестве контроля были выбраны 37 практически здоровых доноров соответствующего возраста.

Результаты и выводы. До комплексного лечения уровень ФСГ не отличался от нормы, а содержание ЛГ превышало в 1,4 раза, уровень Э₂ был снижен в 1,4 раза, а Р₄ напротив, повышен более чем в 4 раза. Коэффициент ФСГ/ЛГ до лечения был ниже нормы в 1,7 раза, уровень ПРЛ - ниже нормы в 2,3 раза, а Т не выходил за пределы физиологических значений. После комплексного лечения больные были разделены на две группы в зависимости от продолжительности жизни. У больных мужчин с длительностью жизни более 36 месяцев уровень ФСГ в 1,9 раза превышал показатели до лечения, соотношение ФСГ/ЛГ существенно возросло: в 1,7 раза выше нормы и в 3 раза выше, чем до лечения, содержание Р₄ было ниже в 1,9 раза по сравнению с группой до лечения и в 4 раза, по сравнению с больными с меньшей продолжительностью жизни. Коэффициент Э₂/Р₄ статистически не изменился, оставаясь сниженным в 4,5 раза. У больных проживших менее 12 месяцев после лечения: содержание ФСГ оказалось ниже нормы в 1,5 раза и в 2,9 раза ниже, чем у проживших больше, соотношение ФСГ/ЛГ не изменилось, оставаясь ниже нормы в 1,8 раза, уровень Р₄ - был повышен в 9 раз по сравнению с нормой. Э₂/Р₄ снизился еще больше: в 1,7 раз, чем был до лечения и в 19 раз по сравнению с нормой. Вне зависимости от продолжительности жизни: уровень ЛГ был ниже, чем до лечения в 1,3 раза, а уровень Э₂ еще больше снизился: в 2 раза по сравнению с нормой и в 1,4 раза до лечения. У больных диссеминированной меланомой кожи наблюдаются нарушения гормонального статуса крови. По соотношению эстрогенов и прогестина, а так же гонадотропных гормонов, можно предполагать исход лечения.

Е.М. Францияни, Ф.Р. Джабаров, Л.Я. Розенко, Е.Ф. Комарова, М.Б. Козлова

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ТИРЕОИДНЫЙ И ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫЙ ГОМЕОСТАЗЫ У БОЛЬНЫХ ДИССЕМИНИРОВАННОЙ МЕЛАНОМой КОЖИ

ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России, Ростов-на-Дону

Задачи исследования. Изучить состояние тиреоидной и кортизолобразующей функции у больных с диссеминированной меланомой кожи в динамике комплексного лечения.

Материалы и методы. В крови 47 больных с диссеминированной меланомой до и после комплексного лечения, включающего ДГТ в режиме ускоренного гиперфракционирования дозы (РОД= равной 1,3 Гр, СОД= 60,0±5,2 Гр), дополненного аутомиелохимиотерапией с дакарбазином-ЛЭНС, определяли уровень Т₃, Т₄, ТТГ и кортизола. В качестве контроля были выбраны 37 практически здоровых доноров соответствующего возраста и пола.

Результаты и выводы. У 63,6 % больных примененное лечение сопровождалось нормализацией тиреоидной функции – общий Т₄ достоверно возрастал в среднем в 1,2 раза, достигая контроля, а в 36,4 % случаев наблюдалось резкое (в 2 раза) снижение, значительно превосходящее показатели у больных до лечения. У 40 % пролеченных резко снижался ТТГ, статистически достоверно отличаясь как от контроля, так и от исходного уровней. Содержание общего Т₃ у больных после лечения не имело достоверного отличия от контроля у всех пациентов. Содержание в крови больных после лечения свободных форм тиреоидных гормонов, в отличие от этапа до лечения, изменялось только в отношении свободного Т₄ – его концентрация нормализовалась. Динамика концентрации кортизола в крови больных после завершения лечения была такова: в 38,5 % наблюдений соответствовало контролю, а в 38,5 % превышало в 1,6 раза и в 23 % – было снижено в 2,2 раза. В зависимости от эффективности лечения (полная резорбция или прогрессирование заболевания) было обнаружено, что в случае генерализации процесса более чем у половины больных наблюдаются сбои кортизолобразующей функции надпочечников на фоне нарушений тиреоидного гомеостаза (снижение ТТГ, общих Т₃ и Т₄ и увеличением их свободных форм). Т.о., комплексное лечение влияло на состояние тиреоидного и глюкокортикоидного гомеостаза у больных меланомой кожи. Наблюдаемый у больных различный клинический ответ на лечебные воздействия сочетался с различиями в их гормональном статусе – он не отличался от контроля при максимальном противоопухолевом эффекте и характеризовался усилением Т₄-продуцирующей и подавлением Т₃-образующей активности у больных с прогрессированием злокачественного процесса.

И.А. Хомутенко, А.Н. Шевченко

АУТОБИОХИМИОТЕРАПИЯ

В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ИНВАЗИВНОГО РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ T₂₋₃N₁₋₃M₀

ФГБУ «РНИОИ Минздравоохранения» РФ, Ростов-на-Дону

Задачи исследования. Изучить отдаленные результаты комплексного лечения инвазивного рака мочевого пузыря с использованием неоадьювантной эндолимфатической аутоплазмохимиотерапии в сочетании с адьювантной аутогемохимиотерапией.

Материалы и методы. В исследование вошли 40 пациентов с впервые выявленным инвазивным раком мочевого пузыря, которые были разделены на 2 группы: основную группу составили 19 больных, которым проводилось неоадьювантное эндолимфатическое введение суммарно 3200 мг циклофосфана (по 1600 мг циклофосфана в лимфатические сосуды обеих нижних конечностей с интервалом 7 дней), инкубированного на аутоплазме, через 10 дней от первого введения осуществлялось оперативное лечение, с последующим проведением в адьювантном режиме 2 курсов аутогемохимиотерапии по 2000 мг гемзара и 100 мг цисплатина. Контрольную группу составил 21 пациент, которым проводилось комплексное лечение в объеме резекции мочевого пузыря и аналогичной адьювантной аутогемохимиотерапии.

Результаты и выводы. В контрольной группе в 89,5 % наблюдений достигнут общий регрессионный клинический эффект (с полной регрессией в 10,5 %), выявлено уменьшение объема первичной опухоли в среднем на 32,6 % и на 34,4 % увеличение объема мочевого пузыря. Выявлено существенное (на 27,8 %) увеличение 3-летней общей выживаемости больных до 82,1±5,1 % по сравнению с контрольной группой – 54,3±6,3 % пациентов. Медиана общей выживаемости больных в основной группе составила более 40 месяцев, а в контроле – 31 месяц (p=0,0423). Бессобытийная и безрецидивная выживаемость больных инвазивным раком мочевого пузыря составила соответственно 37,4±7,2 % и 45,4±6,1 %, в контроле соответственно 15,3±5,6 % и 19,8 ±6,4 %. Медиана бессобытийной и безрецидивной выживаемости больных в основной группе составила 27 месяцев, а в контроле – 12 месяцев (p=0,0045). Медиана выживаемости больных до первых признаков прогрессирования в контрольной группе равнялась 20 месяцам, а в основной – более 36 месяцев (p=0,0078). Таким образом, неоадьювантная эндолимфатическая аутоплазмохимиотерапия способствовала существенному (в 1,5 раза) улучшению отдаленных результатов лечения, увеличению длительности безрецидивного периода и бессобытийной выживаемости соответственно в 2,3 и 2,4 раза.

А.Н. Хочанский

ВЛИЯНИЕ МОДИФИКАЦИИ АГЛИКОНА

НА ПРОТИВООПУХОЛЕВУЮ АКТИВНОСТЬ МУРАМИЛ ДИПЕТИДА *IN VIVO*

ФГБУ «РОИЦ им. Н.Н.Блохина» РАМН, Москва

Задачи исследования. Определить влияние новой модификации ГМДП на рост, метастазирование меланомы и увеличение выживаемости на модели мышей линии C56 Blackie.

Материалы и методы. Исследование проведено на мышах линии C57 В1. Были сформированы 9 экспериментальных и 1 контрольная группы по 10 животных. Всем животным экспериментальных групп была привита опухоль меланомы В16 в дозе 100000 клеток под кожу в область грудной клетки (3 группы) или в заднюю лапку (4 группы). Исследуемое вещество, разведенное в физиологическом растворе, вводилось внутривентриально в концентрациях 1, 5, 25 мкг/животное в следующем режиме: за 24 ч до прививки опухоли и через каждые 24 ч в течение 3 суток, в дальнейшем через каждые трое суток до гибели первого животного. После начала гибели первой мыши с прививкой опухоли в лапку все животные групп с прививкой в лапку выводились из эксперимента и оценивалось количество метастазов в легкие.

Результаты. Достоверное торможение роста опухоли (55 %) отмечалось только в группах с опухолью, привитой в область грудной клетки при действии тестируемого вещества в диапазоне доз от 5 мкг до 25 мкг. Среднее количество метастазов в легкие в контрольной и экспериментальных группах достоверно не отличалось и составляло: контроль – 3,45; 1 мкг – 3,2; 5 мкг – 5,1; 25 мкг – 4,9. Наименьшая выживаемость была выявлена в контрольной группе животных с опухолью в области грудной клетки и в группе с дозой 25 мкг на животное. Увеличение продолжительности жизни животных по сравнению с контрольной группой отмечалось у мышей, получавших тестируемое вещество в дозе 5 мкг (УПЖ=35 %).

Изменение дозы действующего вещества не влияло на сроки гибели животных. Значимых отличий от контрольной группы всех исследованных показателей в группах с введением действующего вещества в дозе 1 мкг обнаружено не было.

Выводы. Исследованное вещество вызывает достоверное торможение роста опухоли и развития метастазов у мышей с привитой опухолью меланомы В16. Полученные данные указывают на отсутствие принципиального отличия исследуемого вещества от других иммуномодулирующих средств. Полученная противоопухолевая активность исследованного вещества очевидно обусловлена его иммуномодулирующей активностью и не имеет четко выраженного дозозависимого характера.

В.Т. Циклаури, Т.Н. Заботина, О.В. Короткова, С.С. Соловьев, Е.Г. Матякин, З.Г. Кадагидзе
ВЛИЯНИЕ ГАЛАВИТА НА ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ.

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина» РАМН, Москва

Цель исследования. Изучение влияния препарата Галавит на фагоцитарную функцию гранулоцитов и моноцитов периферической крови больных раком слизистой оболочки полости рта в периоперационном периоде.

Материалы и методы. В исследование были включены 48 первичных больных раком слизистой оболочки полости рта, 25 пациентов получали Галавит (5 инъекций до операции, 5 - после), 23 человека в группе плацебо, в качестве контроля использовали кровь 16 здоровых доноров. Иммунологическое обследование проводили до начала лечения, в день операции, на 7–10 сутки после операции. С помощью коммерческих тест-систем PHAGOTEST® и BURSTEST® (BD Biosciences) методом проточной цитометрии определяли фагоцитарную и ферментативную активность гранулоцитов и моноцитов по поглощению FITC-меченых *E. Colii* и продукции активных форм кислорода.

Результаты и выводы. Выявлено, что до начала лечения у всех больных фагоцитарная активность как гранулоцитов, так и моноцитов не отличалась от показателей здоровых доноров. Микробицидная активность гранулоцитов данных пациентов определялась на уровне контрольной группы, в то время как активность моноцитов была статистически значимо снижена и составила $62,4 \pm 0,1$, в контроле $78,3 \pm 0,1$ ($p < 0,003$). Следует отметить, что продукция активных форм кислорода фагоцитами больных была идентична группе доноров. Анализ функциональной активности клеток гранулоцитарно-макрофагального звена иммунитета больных раком слизистой оболочки полости рта после проведенного хирургического лечения, выявила следующее: 1) фагоцитарная активность гранулоцитов в группе больных, получавших Галавит, превышала показатели группы сравнения – $81,0 \pm 0,2$ и $65,2 \pm 0,1$ ($p < 0,006$). Различий в активности моноцитов не выявлено. 2) Завершенность фагоцитоза, оцениваемая по бактерицидной и фунгицидной функции гранулоцитов и моноцитов в группе больных, получавших Галавит, значительно превышала аналогичные показатели группы сравнения – гранулоциты $91,3 \pm 0,01$ и $65,9 \pm 0,3$ ($p < 0,0006$); моноциты $66,4 \pm 0,1$ и $52,3 \pm 0,2$ ($p < 0,02$). Нами обнаружено, что продукция активных форм кислорода гранулоцитами и моноцитами, также была статистически достоверно выше в группе больных с иммунокоррекцией. Таким образом, показана целесообразность включения Галавита в комплексное лечение онкологических больных.

А.Р. Чочиева¹, Л.З. Болиева¹, В.В. Решетникова², А.В. Погобало³
К МЕХАНИЗМУ ОНКОПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ СОЕДИНЕНИЯ ГРУППЫ МОНОТЕРПЕНОВ ЛИМОНЕНА

¹ГБОУ ВПО СОГМА Минздравсоцразвития России, Владикавказ

²ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

³Государственная классическая академия им. Маймонида, Москва

Цель исследования. Изучение химиопротекторной активности соединения группы монотерпенов лимонена на модели канцерогенеза молочной железы, индуцированного у крыс N-метил-N-нитрозомочевинной (МНМ), а также влияния данного соединения на процессы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты (ПОЛ-АОЗ) как возможного механизма его химиопротекторного действия.

Материалы и методы. Исследования проведены на крысах-самках линии Вистар. Опухоли молочной железы индуцировали путем 5-кратного 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, 4 раза в неделю с кормом 5% лимонен. Эффективность модифицирующего воздействия оценивали путем сравнения частоты и латентного периода возникновения опухолей в контрольной и опытной группах. Состояние процессов ПОЛ-АОЗ определяли по содержанию в крови малонового диальдегида (МДА), супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы в период формирования опухоли и в конце эксперимента.

Результаты. Частота возникновения опухолей в опытной группе, получавшей лимонен, была достоверно ниже контрольного показателя и составила 55,6 % против 87,5 % ($p < 0,05$); латентный период развития опухолей был равен $148,4 \pm 11,1$ суткам против $119,0 \pm 7,4$ суток в контроле ($p < 0,05$). В группе, получавшей лимонен, была снижена интенсивность окислительных процессов, свидетельством чего являлся статистически более низкий по сравнению с контролем уровень МДА на всех этапах исследования (на 26, 46 и 34 % соответственно, $p < 0,01$). В то же время активность СОД и каталазы достоверно превосходила соответствующие показатели в контроле. Активность СОД на протяжении всего периода наблюдения превосходила показатели в контрольной группе в 2,3 раза ($p < 0,01$); активность каталазы повышалась от 1,3 раз в начале эксперимента до 2,9 раз в конце ($p < 0,01$).

Выводы. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод о том, что лимонен обладает статистически достоверным химиопротекторным действием, в механизме которого существенное значение может иметь его антиоксидантная активность.

М.М. Шамцян¹, В.А. Галынкин^{1,2}, А.В. Гарабаджу¹, Н.Н. Петрищев³

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЙ И ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ВЫСШИХ ГРИБОВ

¹Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), Санкт-Петербург

²ЗАО «НИИ «РОСБИО», Санкт-Петербург

³Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

Высшие грибы обладают широким спектром биологической активности. В последнее время значительный интерес вызывают их иммуномодулирующие, противоопухолевые, антибактериальные, антифунгальные, антивирусные, антиоксидантные, противовоспалительные и ряд других свойств. Большие возможности открывает глубинное культивирование грибов, позволяющее значительно сократить сроки их выращивания, получать более стандартную продукцию и организовать более эффективное производство. Наши исследования были посвящены изучению иммуномодулирующих и противоопухолевых свойств некоторых высших грибов. Для получения плодовых тел дикие грибы были собраны нами преимущественно в лесах и парках Северо-Запада России и выделены в чистую культуру. Грибы культивировались в глубинных условиях и иммуномодулирующая и противоопухолевая активность определялась у водных экстрактов глубинного мицелия грибов, методами *in vitro* и *in vivo*. Было выявлено, что водные экстракты многих исследованных грибов, преимущественно состоящие из β-глюканов, обладали выраженным иммуномодулирующим действием: активировали реакцию фагоцитоза у моноцитарных клеток крови, обладали сильным митогенным эффектом, стимулировали пролиферацию В-лимфоцитов, индуцировали продукцию провоспалительных цитокинов – интерлейкина-1β и интерлейкина-8. Противоопухолевые свойства грибных экстрактов изучались на животных с быстро развивающимися перивисцеральными опухолями: меланомой В16 и асцитной карциномой Эрлиха. Изучалось воздействие грибных экстрактов при их пероральном приёме. Наилучшие результаты при исследовании влияния экстрактов на развитие меланомы В16, показал экстракт из гриба *Pleurotus ostreatus*, а при исследовании влияния экстрактов на развитие асцитной карциномы Эрлиха, наилучший эффект наблюдался при использовании экстракта *Setpina unicolor*. Прием экстрактов приводил к уменьшению размеров опухолей и увеличению продолжительности жизни подопытных животных.

М.В. Ширманова¹, Е.В. Серебровская², К.А. Лукьянов², М.А. Сироткина¹, Е.А. Минакова³, Л.Б. Снопва¹, М.Л. Бугрова¹, Н.В. Евтеева¹, И.В. Турчин⁴, С.А. Лукьянов², Е.В. Загайнова¹

ФОТОТОКСИЧНЫЙ БЕЛОК KILLERRED КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОР ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ: ПЕРВЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

¹Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород

²Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

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

⁴Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород

В 2005 г. в лаборатории Лукьянова С.А. (ИБХ РАН) был создан уникальный флуоресцентный белок KillerRed, обладающий выраженными фототоксичными свойствами. KillerRed имеет максимум возбуждения на длине волны 585 нм, максимум флуоресценции на 610 нм. На сегодняшний день его цитотоксичность, обусловленная предположительно реакцией фотосенсибилизации I типа, продемонстрирована на культурах опухолевых и бактериальных клеток *in vitro*. Причем показано, что путь гибели клеток определяется субклеточной локализацией белка. Представленная работа посвящена исследованию фототоксических эффектов белка KillerRed в экспериментальных опухолях животных. Исследование выполнено на мышах *nude* с привитой подкожно опухолью HeLa Kyoto (рак шейки матки человека). Опухолевые клетки стабильно экспрессировали красный флуоресцентный белок KillerRed. Наблюдение за изменением размеров опухолей и интенсивности флуоресценции проводилось *in vivo* на установке для поверхностного флуоресцентного имиджинга (ИПФ РАН). После облучения образцы опухолей были отправлены на гистологическое исследование, электронную и конфокальную флуоресцентную микроскопию. Было установлено, что после лазерного облучения опухолей на длине волны возбуждения белка интенсивность флуоресценции опухолей снижается. Предполагается, что снижение флуоресценции связано с фотовыгоранием белка, которое сопровождается фотодинамической реакцией. По результатам патоморфологического анализа в облученных опухолях с белком подавляющее большинство клеток содержало выраженные дистрофические изменения. Полученные результаты свидетельствуют о потенциальной возможности использования фототоксичного белка KillerRed как генетически-кодируемого фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии опухолей.

*А.И. Шихлярова, Г.Я. Марьяновская, Л.П. Барсукова, Е.П. Коробейникова,
Т.П. Протасова, И.А. Резинькова, Т.А. Куркина*

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ХИМИОТЕРАПИИ С ПОМОЩЬЮ ФАКТОРОВ ГУМОРАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

ФГБУ «РНИИОИ» Минздравсоцразвития РФ, Ростов-на-Дону

Задачей исследования было изучение модулирующего действия цАМФ для снижения токсичности химиотерапии циклофосфаном (ЦФ) в эксперименте. Результаты получены на 40 беспородных крысах-самцах с перевивной саркомой-45. цАМФ – посредник адаптивного регулирования вводили в мультидозовом режиме. Оценивали динамику роста саркомы С-45, активность ферментов СДГ и α -ГФДГ, динамику развития общих адаптационных реакций и уровень интоксикации организма. Проводили оценку морфоструктурных процессов в тимико-лимфатической и эндокринной системах. Было показано, что при сравнимых исходных объемах опухолей поздних сроков развития в основной (цАМФ + ЦФ) и контрольной (ЦФ) группах $\bar{X} - 2,99 \text{ см}^3$ и $\bar{X} - 2,95 \text{ см}^3$ соответственно. После курса химиотерапии (4 введения ЦФ по 50 мг/кг) динамика регрессии опухолей составила: в основной группе – $1,03 \text{ см}^3$, а в контрольной – $0,35 \text{ см}^3$. Средний объем опухолей у крыс основной группы уменьшился в 1,4 раза по сравнению с группой животных, не получавших цАМФ. Через 50 дней после окончания курса воздействий в основной группе выжили 60 % крыс, а в контроле – 25 %. Продолжительность жизни животных, получавших цАМФ, составила в среднем 72,8 суток (максимально – 136 суток), что на 30 % превысило данные контроля. Уровень СДГ и α -ГФДГ повышался в 1,7 раза. На 54 % снижалась интоксикация (тесты по А.В. Самохину с соавт., 1998), увеличивался процент общих адаптационных реакций антистрессорного типа, особенно на начальных этапах лечения. Создание метаболического ацидоза введением в перифокальную зону опухоли АТФ или димедрола в сочетании с регуляторным влиянием цАМФ на следующий день после перевивки С-45 характеризовалось 100% или частичной регрессией опухоли. Отмечено увеличение коэффициентов соотношения массы тимуса и надпочечников, лимфоцитарно-клеточного звена к нейтрофильному в крови, повышение уровня СД_3 (Т-ЛФ), $\text{СД}_{161\text{A}}$, (НК-клетки), $\text{СД}_{45\text{A}}$ (В-ЛФ), снижение энергопродукции митохондрией лимфоцитарного микроокружения опухоли, отсутствие токсических проявлений. Таким образом, регуляция метаболизма посредством цАМФ, как в сочетании с ЦФ, так и в условиях метаболического ацидоза улучшает качество жизни при усилении действия химиотерапии.

*А.И. Шихлярова, Л.П. Барсукова, Г.Я. Марьяновская, Е.П. Коробейникова,
Т.П. Протасова, И.А. Резинькова, Т.А. Куркина*

ВОЗМОЖНОСТИ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ХИМИОТЕРАПИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

ФГБУ «РНИИОИ» Минздравсоцразвития РФ, Ростов-на-Дону

Задача исследования – изучение возможности смягчения повреждающего действия специфического противоопухолевого лечения. Результаты электромагнитных воздействий в алгоритме частот 0,03-0,3-3-9гц, соответствующих электрической активности корковых структур мозга, указывали на включение регуляторных механизмов различных иерархических уровней, позволивших получить регрессию перевивных опухолей с минимальными токсическими проявлениями. В опытах на 47 белых беспородных крысах с перевивной С-45 использовали магнитные поля сверхнизкочастотного диапазона (СНЧМП). Исследовали модулирующее влияние СНЧМП на противоопухолевую активность циклофосфана (ЦФ) в повышенных дозах – 75мг/кг массы. Развитие адаптационных реакций (АР) и расчёт индексов интоксикации проводили по лейкоцитарной формуле крови. В результате примененных воздействий конечные объемы опухолей в группах были следующими: СНЧМП – $5,29 \pm 0,91 \text{ см}^3$; ЦФ – $1,57 \pm 0,98 \text{ см}^3$; и при сочетании СНЧМП и ЦФ – $0,78 \pm 0,24 \text{ см}^3$; в контроле – $19,6 \pm 5,3 \text{ см}^3$ ($p < 0,001$). Противоопухолевая эффективность (по суммарному проценту торможения и полной регрессии) в группе с ЦФ составила 92%, однако сопровождалась гибелью животных опухолосителей в 30–40 % случаев. Сочетание СНЧМП и ЦФ при практически равном противоопухолевом эффекте, снижало летальность животных до 10–15%. Кроме того, уже к началу второй недели сочетанного воздействия СНЧМП и ЦФ отмечен эффект сокращения сроков регрессии опухоли. Период регрессии составлял 9–11 сут против 13–15 сут в группе с применением только СНЧМП ($p < 0,05$). Воздействия СНЧМП способствовали повышению противоопухолевой резистентности с развитием антистрессорных АР, повышению детоксикационной устойчивости животных (контроль по тестам интоксикации), вследствие чего снизился процент гибели животных в 2,5–3 раза. С целью дальнейшего уменьшения токсических проявлений ЦФ был разработан режим снижения интенсивности МП по экспоненциальному режиму, что позволило сохранить информативность поличастотного сигнала при возрастании процента полной регрессии в 1,3 раза, отсутствии гибели животных во временных рамках проводимых воздействий и увеличении продолжительности жизни животных, оставленных на выживание в 2,4 раза. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности применения СНЧМП предлагаемых параметров для снижения токсичности противоопухолевой химиотерапии.

С.В. Шумилова, Д.В. Новиков, А.Ю. Барышников, В.В. Новиков

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ СИСТЕМЫ IL-2 – IL-2R В КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЛЕГКИХ A549 И NCI-H23

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород
ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Задачи исследования. Рецептор интерлейкина-2 (IL-2R) человека присутствует не только на клетках гемопозитической системы, но также на нормальных и неопластических клетках эпителиальных тканей человека. Показано, что IL-2 обладает плейотропным действием на опухолевые клетки, ингибирует или стимулирует их пролиферацию. Высокоаффинный рецептор интерлейкина-2 (IL-2R) состоит из трех полипептидных цепей: IL-2R α (CD25), IL-2R β (CD122) и IL-2R γ (CD132). Экспрессия IL-2R α , IL-2R β и IL-2R γ цепей IL-2R обнаружена на транскрипционном уровне во многих типах раковых клеток. В клетках карцином наиболее высоким является уровень экспрессии бета-цепи IL-2R. Целью настоящей работы явилось определение экспрессии мРНК интерлейкина-2 человека и трех цепей рецептора IL-2R в клеточных линиях аденокарциномы легких A549 и NCI-H23.

Материалы и методы. Материалом для исследования явились образцы клеточных линий аденокарциномы легких A549 и NCI-H23, предоставленные Российским онкологическим научным центром им. Н.Н.Блохина РАМН. Характер экспрессии генов IL-2, IL-2R α , IL-2R β , IL-2R γ определяли методом ОТ-ПЦР с использованием разработанных авторами праймеров.

Результаты и выводы. В образцах клеточных линий аденокарциномы легких A549 и NCI-H23 экспрессия генов IL-2, IL-2R α и IL-2R γ не обнаружена. Отсутствие экспрессии гена интерлейкина-2 в клетках исследуемых линий является свидетельством независимости пролиферации данных клеток от эндогенного IL-2. Вероятно, индукция экспрессии α и γ цепей в тестированных типах клеток происходит только после воздействия экзогенного IL-2. В обеих клеточных линиях обнаружено присутствие матричных РНК бета-цепи IL-2R. Возможным объяснением такого факта является предположение, что IL-2R β в клетках исследуемых типов может принимать участие в сигнальных путях, инициируемых не IL-2, а другими факторами роста, в частности интерлейкином-15.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2012 гг.».

А.Е. Щекотихин¹, Н.А. Лесная², В.И. Романенко², Е.М. Трещалина², М.Н. Преображенская¹

СРАВНЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ГИДРОХЛОРИДА И МЕТАНСУЛЬФОНАТА ПРОИЗВОДНОГО ФУРАНОХИНИЗАРИНА

¹ФГБУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе» РАМН, Москва

²ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина» РАМН, Москва

Введение. Ранее была показана высокая противоопухолевая активность гидрохлорида производного фуранохинизарина, изучение которого осложняется низкой растворимостью в воде. Поэтому для дальнейшего изучения *in vivo* из ряда новых солей ЛХТА-1382 нами отобран метансульфонат ЛХТА-1972, обладающий лучшей водорастворимостью.

Цель исследования. Сравнительное изучение противоопухолевой активности метансульфоната и гидрохлорида производных фуранохинизарина на лимфолейкозе P388.

Материалы и методы. Метансульфонат и гидрохлорид производного фуранохинизарина получены по ранее разработанной схеме (патент РФ № 2412166, 2011). Для оценки противоопухолевой активности использованы мыши *BDF₁* с внутрибрюшинно (в/б) перевитым лимфолейкозом P388. Лечение начинали на 2 сутки после трансплантации. Препараты вводили в/б в разовых дозах 10–70 мг/кг (суммарно 50–350 мг/кг) ежедневно 5 дней. Противоопухолевый эффект оценен по стандартному критерию $T/C \geq 125\%$, достоверными считали различия при $p \leq 0,05$ ($n=3-4$).

Результаты. Показано, что обе соли проявляют дозозависимое противоопухолевое действие в диапазоне переносимых доз от 10 до 50 мг/кг на уровне $T/C=150-290\%$ ($p < 0,05$). Для метансульфоната ЛХТА-1972 максимальный эффект ($T/C=290\%$) получен при дозе 40 мг/кг (суммарная 200 мг/кг). Разовые дозы выше 70 мг/кг были токсичными и вызывали гибель мышей. Для гидрохлорида ЛХТА-1382 максимальный эффект ($T/C=153\%$) получен в разовой дозе 15 мг/кг (суммарно 75 мг/кг).

Заключение. Анализ результатов свидетельствует о более широком диапазоне терапевтических доз метансульфоната ЛХТА-1972 по сравнению с гидрохлоридом ЛХТА-1382, что может быть связано с увеличением биодоступности более растворимого в воде агента. Метансульфонат ЛХТА-1972 рекомендован для дальнейшего углубленного изучения.

Т.Л. Юркишович¹, П.М. Бычковский¹, Н.В. Голуб¹, В.А. Алиновская¹, Р.И. Костерова¹, С.О. Соломевич¹, А.А. Кладиев², С.А. Красный³, Ю.П. Истомина³, Е.Н. Александрова³, М.Ю. Ревтович³, А.И. Шмак³

РАЗРАБОТКА ПРОЛОНГИРОВАННОЙ ФОРМЫ ПРОСПИДИНА И ИЗУЧЕНИЕ ЕЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ

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

² ООО «Биотехнологическая компания ТНК», Москва

³ ГУ «РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова», Минск

Цель исследования. Получение и экспериментальное изучение противоопухолевой активности пролонгированной формы проспидия хлорида (проспидин) в отношении опухоли Йенсена в эксперименте *in vivo*.

Задачи исследования. Изучение межмолекулярных взаимодействий между фосфатом декстрана (ФД) и проспидином; получение его пролонгированной формы; сравнительная оценка противоопухолевой активности полимера-носителя; фармацевтической субстанции проспицина и его пролонгированной формы.

Материалы и методы. В качестве полимера-носителя проспицина были использованы гелеобразующие фосфаты декстрана (ФД), которые получали путем этерификации декстрана с молекулярной массой 60 кДа ортофосфорной кислотой (х. ч.) в расплаве мочевины (х. ч.) при мольном соотношении компонентов глюкопиранозное звено: $H_3PO_4 : (NH_2)_2CO = 1:0,6:4,0$, температуре 125 °С, остаточном давлении – 0,04 – 0,2 атм. в течение 3 часов. Пролонгированную форму проспицина готовили путем смешения компонентов при разном массовом соотношении (ФД: проспидин: вода), последующим лиофильным высушиванием. Медико-биологические испытания были проведены на беспородных крысах весом 120–160 г с перевитой саркомой Йенсена. Препарат проспицина в виде раствора субстанции и пролонгированной формы, представляющей собой микрогели в водной среде, вводили крысам однократно внутривентриально.

Результаты и выводы. Установлено, что иммобилизация проспицина на гидрогелях фосфатов декстрана (содержание фосфорнокислых групп равно 2,5 – 2,7 ммоль/г, карбаматных – 1,3 – 2,1 ммоль/г; степень набухания в воде находится в интервале 80 – 160 г/г.) протекает по ионному обмену и распределительному механизму с образованием ассоциатов за счет водородных связей. Показано, что степень высвобождения проспицина из лекарственной формы зависит от степени сшивания фосфата декстрана и массового соотношения полимер – цитостатик. На основании медико – биологических испытаний *in vivo* установлено, что гелеобразующий препарат проспицина является более эффективным по сравнению с инъекционной формой и обладает более длительным периодом действия.

И.В. Ярцева, Е.В. Игнатьева, Н.А. Дмитричева

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОКТАНАТРИЕВОЙ СОЛИ ОКТАКАРБОКСИФТАЛОЦИАНИНА ЦИНКА

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Октанатриевая соль 2,3,9,10,16,17,23,24-октакарбокситфаллоцианина цинка $[ZnPc(COONa)_8]$ – новое комплексное соединение цинка, полученное в ФГУП «ГНЦ «НИОПИК» и предназначенное для сонотерапии опухолей.

Цель исследования. Разработка методики прямого количественного определения октанатриевой соли 2,3,9,10,16,17,23,24-октакарбокситфаллоцианина цинка $[ZnPc(COONa)_8]$ в субстанции.

Материалы и методы. Образец субстанции $ZnPc(COONa)_8$; титриметрия.

Результаты. Одной из главных задач стандартизации новой субстанции является выбор метода количественного определения содержания основного действующего вещества. Для количественного определения октанатриевой соли 2,3,9,10,16,17,23,24-октакарбокситфаллоцианина цинка нами предложена методика, основанная на определении содержания цинка после разложения образца субстанции кислотой серной концентрированной при нагревании. Серией опытов было показано, что при озолении $ZnPc(COONa)_8$ необходимо присутствие достаточно сильного окислителя, поэтому после разложения серной кислотой остаток сплавляли с калием надсернокислым и далее раствор полученного плава титровали раствором трилона Б в присутствии индикаторной смеси эриохрома черного Т в соответствии с п.37 ГОСТ 10398-63. Относительная ошибка количественного определения $ZnPc(COONa)_8$ данным методом не превышала 2 %.

Работа поддержана Правительством г. Москвы. Авторы благодарят Г.Н. Ворожцова, О.Л. Калию, Е.А. Лукьянца и Л.И. Соловьеву за сотрудничество и предоставленные для исследования образцы октанатриевой соли октакарбокситфаллоцианина цинка.

К 60-летию со дня рождения В.В. Новикова

31 мая 2012 года исполняется 60 лет Виктору Владимировичу Новикову.

В.В. Новиков – выпускник кафедры физиологии и биохимии человека и животных Горьковского государственного университета (1974), доктор биологических наук (1995), профессор по специальности 14.00.36 – «Аллергология и иммунология» (2002). В.В.Новиков – директор созданного в 2002 году при его участии Научно-исследовательского института молекулярной биологии и региональной экологии Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского. По совместительству – заведующий кафедрой молекулярной биологии и иммунологии ННГУ (1999). С 1982 года работает также в Нижегородском НИИ эпидемиологии и микробиологии, с 2002 года там же по совместительству заведует лабораторией молекулярной иммунологии бактериальных и вирусных инфекций.

В 1988 году В.В. Новиковым впервые в стране был организован серийный выпуск моноклональных антител для иммунофенотипирования клеток и оценки состояния клеточного иммунитета. В.В. Новиков – основоположник нового в России научного направления, в рамках которого проводится исследование иммунорегуляторной роли растворимых форм мембранных антигенов клеток иммунной системы, и на этой основе созданы новые средства иммунодиагностики с применением методов клеточной и генетической инженерии. Под его руководством разработаны новые молекулярно-генетические подходы для мониторинга онкологических заболеваний с использованием методов нанобиотехнологии; исследованы особенности транскриптома опухолевых клеток, создан биочип для ранней диагностики и мониторинга онкологических заболеваний, иммуноферментные тест-системы для диагностики и мониторинга социально значимых инфекций, основанные на применении синтетических пептидов, рекомбинантных белков и моноклональных антител. За организацию выпуска иммуноферментных тест-систем под руководством В.В.Новикова научно-производственная компания «Препарат» в 2002 году стала лауреатом Главной общероссийской общественной премии «Российский Национальный Олимп».

В.В.Новиков – автор 400 научных публикаций, двух монографий, 14 учебных пособий, 10 патентов, а также получившего международную регистрацию научного открытия. Под его руководством защищено 22 кандидатских и две докторских диссертации. В.В.Новиков читает на биологическом факультете ННГУ лекции по молекулярно-биологическим дисциплинам, руководит курсовыми, дипломными, магистерскими работами, а также кандидатскими и докторскими диссертациями сотрудников и аспирантов ННГУ и других организаций. Он неоднократно являлся руководителем научных проектов, выполняемых в рамках РФФИ, ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России», ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России».

Руководимый В.В.Новиковым институт стал лауреатом конкурса «100 лучших научно-исследовательских учреждений и организаций России», проводившегося под председательством лауреата Нобелевской премии Ж. Алферова в 2010 и 2011 годах, а В.В. Новиков обладатель званий «Ученый года 2010» и «Ученый года 2011» за перспективные нанобиотехнологические разработки. В.В.Новиков – член Диссертационного совета при ННГУ им. Н.И.Лобачевского, председатель Нижегородского отделения Российского научного общества иммунологов, председатель Нижегородского представительства нанотехнологического общества России, член редколлегии «Российского биотерапевтического журнала».

В.В.Новиков – член Российской академии естественных наук, Международной академии естественных наук, Академии медико-технических наук РФ, награжден медалью академика Капицы и медалью Пауля Эрлиха, лауреат Премии г. Нижнего Новгорода в номинации «Наука» (2008), Почетный работник науки и техники Российской Федерации.

Сердечно поздравляем Виктора Владимировича с 60-летием, желаем ему крепкого здоровья, счастья, энергии и новых успехов в научной работе.

Редакция «Российского биотерапевтического журнала»

Друзья и коллеги



А

Д.А. Адамчик 2
С.М. Адекенов 2-3
К.Х. Алмагамбетов 3
А.В. Алясова 4
Н.В. Андропова 4
Н.Ю. Анисимова 5

Б

А.Н. Балаев 5
И.И. Басиева 6
О.А. Безбородова 6-7
Ю.А. Белый 7
Ю.В. Береснева 8
Т.Н. Богатыренко 8
Т.Г. Боровская 9
А.А. Борунова 9
О.А. Бочарова 10
П.М. Бычковский 10

В

А.Ю. Вигоров 11
Е.В. Возняковская 11

Г

С.В. Гамаюнов 12
Л.Х. Гаркави 12-13
Е.В. Гребёнкина 13
Е.Ю. Григорьева 14
М.А. Грин 14
Н. Гуррам 15

Д

Д.В. Демидов 15
А.М. Демин 16
В.А. Деревкова 16
С.В. Дидук 17

Е

В.В. Елагин 17
Н.А. Ермакова 18

З

М.Т. Зангиева 18
Н.И. Зимакова 19
Е.Ю. Златник 19-20
Г.В. Зырина 20

И

А.В. Иванов 21
Е.В. Игнатьева 21
Е.Б. Исакова 22

К

А.В. Калугин 22-23
А.В. Киселев 23
С.Г. Козеев 24
А.П. Козлов 25
А.С. Козлов 25
М.Т. Койбаева 26
Е.Ю. Колдаева 26
Н.В. Комлева 27
Н.П. Коновалова 27
К.Н. Конторщикова 28
О.И. Коняева 28
Л.И. Короленкова 29
Ю.М. Краснопольский 29
Н.Ю. Кульбачевская 30

Л

Ю.Н. Лазутин 30-31
А.В. Ланцова 31-32
И.С. Левачева 32
Н.Ю. Леканова 33
К.В. Лобанов 33

М

Т.А. Маньчева 34
А.В. Мелешина 34
И.Б. Меркулова 35
А.Ф. Миронов 36
Е.В. Моисеева 36

Н

Н.А. Наволокин 37
Г.В. Николаева 37

О

Л.М. Обухова 38
Л.А. Островская 38

П

И.М. Пархоменко 39
Л.А. Пашева 39
Т.Б. Переверзева 40
Е.С. Плеханова 40
Н.А. Плужникова 41
Е.М. Полковниченко 42
С.А. Полозкова 42
И.Р. Просалкова 43
В.А. Пирцхванадзе 43
Н.А. Пятаев 44

Р

Н. Рарпорт 44
А.В. Рябова 45

С

И.В. Самойленко 45
А.В. Самойлов 46
Е.В. Санарова 46
В.М. Сафронова 47
Ф.С. Сенатов 47
А.В. Сергеев 48
М.А. Сироткина 48
З.С. Смирнова 49-50
Н.А. Сокуева 50
Е.Ф. Странадко 51
Ю.В. Стукалов 51
Т.С. Ступина 52

Т

А.С. Тихомиров 52
А.М. Торчинов 53
А.П. Трашков 53
Е.М. Трещалина 54

Ф

Н.П. Фадеев 54
И.И. Файнгольд 55
Е.Н. Филатова 55
Н.В. Филатова 56
Д.В. Филоненко 56
А.А. Фильченков 57
Е.М. Франциянц 57-59

Х

И.А. Хомутенко 60
А.Н. Хочанский 60

Ц

В.Т. Циклаури 61

Ч

А.Р. Чочиева 61

Ш

М.М. Шамцян 62
М.В. Ширманова 62
А.И. Шихлярова 63
С.В. Шумилова 64

Щ

А.Е. Щекотихин 64

Ю

Т.Л. Юркштович 65

Я

И.В. Ярцева 65