

ISSN 1726-9784

РОССИЙСКИЙ БИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ И НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

№2 Том 8 2009 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 (отв. секретарь), Н.А. Батурина, 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, канд. мед. наук (Москва),
Н.Н. Тупицын, д-р мед. наук, проф. (Москва), Е.Г. Турнянская, канд. мед. наук (Москва),
С.А. Тюляндин, д-р мед. наук, проф. (Москва), Ю.В. Шишкин, д-р мед. наук, проф. (Москва),
И.Ж. Шубина, канд. биол. наук (Москва), Р.И. Якубовская, д-р мед. наук, проф. (Москва)

Редакционный совет

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

При финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ

«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: bioterapy_rbj@mail.ru

Интернет-версия: www.ronc.ru/1915

Подписной индекс 81679

Объем усл. печ. листов,

подписано в печать .2009

Тираж 1000 экз.

Издательская группа РОНЦ:

115478 Москва, Каширское шоссе, д. 24.

Тел. +7 (495) 324 24 70; ronc@list.ru

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

Принт-менеджмент:

Типография «Огни Москвы»

Тел.: +7 (494) 933-87-78

info@ognimsk.ru, www.ognimsk.ru

Содержание

Материалы VIII Всероссийской научно-практической конференции «Отечественные противоопухолевые препараты»

ТЕЗИСЫ:

Экспериментальная онкология.....	3
Фотодинамическая терапия.....	26
Лекарственные формы.....	48
Растительные препараты.....	52
Клиническая онкология.....	57
Разное.....	64

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ:

<i>Г.Н. Апрышко</i> ТЕХНОЛОГИЯ РЕГИСТРАЦИИ НОВЫХ ВЕЩЕСТВ В БАНКЕ ДАННЫХ ПО ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМ ВЕЩЕСТВАМ НИИ ЭДИТО ОНКОЛОГИЧЕСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН С ПОМОЩЬЮ «ЭЛЕКТРОННОГО ПАСПОРТА».....	67
---	----

<i>Н.И. Переводчикова*, А.А. Феденко</i> ОСОБЕННОСТИ МЕТОДИКИ КЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ ТАРГЕТНЫХ ПРЕПАРАТОВ.....	75
---	----

<i>Лесная Н.А., Покровский В.С., Романенко В.И., Трещалина Е.М.</i> ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ПЕРЕНОСИМОСТЬ ТРОЙНОЙ КОМБИНАЦИИ С ВКЛЮЧЕНИЕМ ЭТОПОЗИДА, ЦИСПЛАТИНА И АРАНОЗЫ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЭПИДЕРМОИДНОЙ КАРЦИНОМЫ ЛЕГКОГО ЛЬЮИС У МЫШЕЙ.....	79
--	----

<i>Е.Л. Секержинская, А.Ф. Лазарев, В.Д. Петрова</i> ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ ПЕРВИЧНО-МНОЖЕСТВЕННЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ.....	85
---	----

Некоторые понятия

Объективный противоопухолевый эффект = (ПР+ЧР)

Линии опухолевых клеток

гепатома 27 (Г-27)

гепатома Зайделя (ГЗ)

эпидермоидная карцинома легкого Льюис (LLC)

карциномы Эрлиха (КЭ); асцитная карцинома Эрлиха (АКЭ)

Ферменты

малоновый диальдегид МДА

кислая фосфатаза КФ

щелочная фосфатаза ЩФ

супероксиддисмутаза СОД

Препараты

Араноза (Ар)

Дикарбамин (Д)

Доксорубин (Докс; ДС; ДОКСО)

Интаксел (Инт)

Карбоплатин (КАРБ)

Терафтал (ТФ)

Циклоплатам (ЦПТ)

Циклофосфан; циклофосфамид (ЦФ)

Цисплатин ЦП

Фторафур (ФТ)

5-фторурацил (5-ФУ)

Схемы х/т

Иринотекан + Цисплатин (IP)

Этопозид + Цисплатин (EP)

Терафтал + аскорбиновая кислота (ТФ+АК)

«Оксикобаламин-лио» (Ок)

Терафтал + аскорбиновая кислота (ТФ+АК)

«Доксорубин термоллипосомальный лиофилизат для приготовления раствора для инъекций 0,7 мг» (ТЛЛФД-лио)

Цисплатин/Фторурацил (PF)

Доксорубин+Цисплатин (ДОКС+ЦП; ЦП+Доксо)

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОНКОЛОГИЯ

Н.В. Андропова¹, Д.В. Филоненко¹, А.Л. Николаев¹,
А.В. Гопин², Е.М. Трещалина¹, Б.Я. Коган³,
Г.Н. Ворожцов³

ЭФФЕКТИВНОСТЬ МОДИФИКАЦИИ ЛОКАЛЬНОЙ

УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ГИПЕРТЕРМИИ С ПОМОЩЬЮ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА

¹ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

³ФГУП ГНЦ НИОПИК, Москва

Введение. Эффективность ультразвуковой гипертермии (УЗ-ГТ) в онкологии широко известна. Нами совместно с ООО «Альбеде» разработана установка для локальной УЗ-ГТ, генерирующая гипертермию в ранге температур от 39 до 50 °С. С помощью этой установки выполнен цикл работ по изучению различных термомодификаторов УЗ-ГТ, направленных на повышение избирательности повреждающего действия. Наиболее перспективные результаты получены с наночастицами серебра (НЧ-Ag). Результаты исследования представлены ниже.

Цель исследования. В эксперименте оценить эффективность модификации противоопухолевого действия УЗ-ГТ с помощью наночастиц серебра под контролем переносимости.

Материалы и методы. Использованы мыши-самцы BDF1 19–22 г с в/м перевитой эпидермоидной карциномой легкого Льюис $V_0=0,7\text{--}1,0\text{ см}^3$. В опыте 10 групп мышей ($n=5\text{--}8$). Основные группы получали НЧ-Ag за 1–15 мин – 1 ч до УЗ-ГТ 43 °С 10 мин. Группы сравнения получали УЗ-ГТ 43 °С 10 мин. Группа контроля получала инъекции физиологического раствора. В качестве модификаторы использованы НЧ-Ag, покрытые ПЭГ или ПВТ: НЧ-Ag-ПЭГ 1,5 мг/кг или НЧ-Ag-ПВВ 20 мг/кг. Характеристики УЗ-ГТ 43 °С: 1 поле – 1 Вт/см²; 0,88 МГц; 2 поле – 2 Вт/см²; 2,64 МГц; контактная среда – вода 39 °С. Температура в опухоли 43 °С (контролировали с помощью термодатчика). Оценка эффективности: по времени удвоения опухоли «т» и коэффициенту усиления эффекта как соотношение $\tau_{\text{опыта}}/\tau_{\text{контроля}} K=$.

Результаты. В группе УЗ-ГТ 43 °С получен $K=2,0$. В группах с НЧ-Ag-ПВВ+УЗ-ГТ получен $K=2,5\text{--}3,5$ при интервалах 1 мин–1 ч соответственно. В основных группах НЧ-Ag-ПЭГ+УЗ-ГТ получен $K=4,0\text{--}4,7$ при тех же интервалах. Терапевтический выигрыш в случае применения НЧ-Ag-ПЭГ в дозе 1,5 мг/кг, введенного за 15 мин до УЗ-ГТ составил 1,8 раз ($p<0,05$). Переносимость всех видов воздействия удовлетворительная, видимых повреждений нормальных тканей в месте УЗ-ГТ не наблюдали.

Группа, доза	τ_2	K
Контроль (физ. р-р), 2 опыта	1,5–2,0	–
УЗ-ГТ 43°С	4,0	2,0
НЧ-Ag-ПВВ 20 мг/кг+1 мин+УЗ-ГТ	5,0	2,5
НЧ-Ag-ПВВ 20 мг/кг+15 мин+УЗ-ГТ	7,0	3,5
НЧ-Ag-ПВВ 20 мг/кг+1 час+УЗ-ГТ	7,0	3,5
НЧ-Ag-ПЭГ 1,5 мг/кг+1 мин+УЗ-ГТ	6,0	4,0
НЧ-Ag-ПЭГ 1,5 мг/кг+15 мин+УЗ-ГТ	7,0	4,7
НЧ-Ag-ПЭГ 1,5 мг/кг+1 ч+УЗ-ГТ	6,0	4,0

Заключение. Использование НЧ-Ag-ПЭГ 1,5 мг/кг в качестве модификатора с УЗ-ГТ 43 °С в схеме ЦП+Доксо приводит к достоверной задержке роста в/м трансплантированного LLC в сравнении с УЗ-ГТ.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Правительства Москвы.

Н.В. Андропова¹, Д.В. Филоненко¹, А.Л. Николаев¹,
А.В. Гопин², Е.М. Трещалина¹, О.Л. Калия³,
Г.Н. Ворожцов³

ЭФФЕКТИВНОСТЬ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ СОНОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПО СХЕМЕ ЦИСПЛАТИН+ДОКСОРУБИЦИН С ТЕРАФТАЛОМ НА МЫШАХ С ПЕРЕВИВАЕМОЙ КАРЦИНОМОЙ ЛЕГКОГО

¹ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

³ФГУП ГНЦ НИОПИК, Москва

Введение. Ранее нами была продемонстрирована эффективность сонодинамической терапии опухолей, включающей локальное ультразвуковое воздействие (УЗ) с предварительным применением соносенситизатора в виде терафала в сочетании с монокимиотерапией. В содружестве с ООО «Альбеде» разработана установка УСДТ, которая предназначена для клинического изучения метода СДТ у больных саркомами мягких тканей, получающих комбинированную химиотерапию по схеме цисплатин + доксорубин. Для обоснования клинического изучения СДТ с ТФ в сочетании с ЦП+Доксо проведено экспериментальное изучение эффективности этой схемы.

Цель исследования. Оценить эффективность и переносимость СДТ с ТФ на мышях с карциномой Льюис.

Материалы и методы. Использованы мыши-самцы BDF1 19–22 г с в/м перевитой эпидермоидной карциномой легкого Льюис $V_0=1,7\text{ см}^3$. В опыте 5 групп мышей ($n=5\text{--}8$). Основная группа УЗ с ТФ и ЦП+Доксо. Группы сравнения получали УЗ; УЗ с ТФ; УЗ с ЦП+Доксо. Группа контроля не получала лечения. Характеристики УЗ: 1 поле – 1 Вт/см²; 0,88 МГц; 2 поле – 2 Вт/см²; 2,64 МГц; контактная среда – вода. ТФ 25 мг/кг вводили в/в за 1 ч до УЗ, цитостатики вводили одновременно последовательно за 2 ч до УЗ ЦП 4–5 мг/кг в/в, Доксо 5–7 мг/кг в/в. Оценка эффективности: по времени удвоения опухоли «т» и коэффициенту усиления эффекта как соотношение $\tau_{\text{опыта}}/\tau_{\text{контроля}} K=$.

Результаты. В группе УЗ+ТФ+ЦП+Доксо получен $K=6,0$. В группах УЗ, УЗ+ТФ, УЗ+ЦП+Доксо получен $K=2,0\text{--}3,3\text{--}4,0$ соответственно. В основной группе СДТ с ТФ в сравнении с СДТ без ТФ терапевтический выигрыш составил 1,5 раза. Переносимость всех видов воздействия удовлетворительная, видимых повреждений нормальных тканей в месте УЗ не наблюдали.

Заключение. Использование ТФ в качестве соносенситизатора с УЗ в сочетании с комбинированной химиотерапией по схеме ЦП+Доксо приводит к задержке роста в/м трансплантированного LLC в 1,5 раза в сравнении с использованием СДТ без терафала.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Правительства Москвы.

Г.Н. Апрышко, Л.В. Гончаренко, Р.Б. Пугачева
**СИСТЕМА ПРЕДСТАВЛЕНИЯ
 СТРУКТУРНО-ХИМИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ
 В БАЗЕ ДАННЫХ
 ПО ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМ ВЕЩЕСТВАМ
 РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН**
 ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Задачи исследования. Разработать единые правила представления структурных формул химических соединений в Базе данных по противоопухолевым веществам (БДПОВ) РОНЦ с целью обеспечения максимальной полноты информационного поиска и эффективного использования структурно-химических данных при виртуальном скрининге биологически активных веществ.

Материалы и методы. Использованы информационные ресурсы Банка данных по противоопухолевым веществам РОНЦ РАМН – массив паспортов на вещества, передаваемые для биологического изучения, и компьютерная база данных, Интернет-доступные базы данных химического профиля, СУБД ISISBASE, программа ISISDRAW.

Результаты. При эксплуатации БДПОВ РОНЦ выявлены различные подходы химиков к графическому представлению – как в традиционном бумажном варианте, так и в электронном виде – структурных формул таких веществ, как структурные изомеры, координационные соединения, полимеры, многокомпонентные системы, сольваты. При разработке правил стандартного представления структурно-химической информации в БДПОВ РОНЦ использованы результаты анализа соответствующих данных в базах данных по химии систем STN International, CAS, ChemWeb, по биологически активным веществам и лекарствам PUBCHEM, Prous Science Integrity, DrugBank, KEGG LIGAND, информационной системы Development Therapeutic Program NCI.

Разработанные правила основаны на принципах исключения из поля структурных данных текстовой информации и сокращенных названий функциональных групп и радикалов типа Me, Et и т.п., обязательного указания стереохимии оптических центров стереоизомеров, размещения сольватных компонентов в специализированном поле базы данных. Для представления структуры координационных соединений выбран принцип искусственного расположения отрицательного заряда на атоме металла-комплексобразователя и положительного заряда на лиганде. Этот несколько искусственный подход связан с ограничениями, обусловленными особенностями химического редактора ISISDRAW.

Заключение. Разработанные правила представления структурных формул включены в используемую при эксплуатации БДПОВ РОНЦ инструкцию по вводу данных и составлению запросов по химической структуре веществ.

Д.Ю. Блохин
**К ВОПРОСУ О МЕХАНИЗМАХ ВОЗНИКНОВЕНИЯ
 И ПРОГРЕССИИ ОПУХОЛЕЙ**
 ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Причиной опухолевой трансформации является накопление в одной клетке критического количества соматических мутаций. Важно, что речь идет не о каком-то определенном наборе мутаций, а о комбинации нескольких наиболее вероятных, в результате которых возникает совокупность фенотипических признаков, характерных для клеток злокачественной опухоли: самообеспечение митогенными стимулами, нечувствительность к антимитогенным сигналам, неограниченный репликативный потенциал, способ-

ность к тканевой инвазии и метастазированию. Предсуществование герминальных мутаций, затрагивающих протоонкогены, повышает вероятность и увеличивает скорость накопления этого критического количества, в связи с чем возрастает риск развития злокачественной опухоли в раннем возрасте.

Мутагенез носит случайный характер и связан как с внешними повреждающими факторами (ионизирующее облучение, химическая модификация оснований, вирус-опосредованная трансформация генома), так и с неабсолютной точностью копирования ДНК в процессе репликации. Функционирующий в клетках аппарат генетического самоконтроля, сопряженный с системами репарации ДНК и программой клеточной гибели, обеспечивает генетический гомеостаз организма, устраняет возникающие мутации или полностью удаляет мутантные клетки при невозможности репарации генетических повреждений. Таким образом последовательное накопление в одной клетке нескольких мутаций возможно только при возникновении предшествующей им мутации, угнетающей аппарат генетического самоконтроля (систем распознавания повреждений, их репарации, активации и исполнения ПКГ). Возникший в результате такого события «мутаторный фенотип» характеризуется толерантностью к новым генетическим повреждениям и является основой для формирования опухолевого трансформанта: по мере накопления мутаций потомки такой клетки могут приобретать фенотипические признаки опухолевых клеток вплоть до их окончательной злокачественной трансформации.

По мере прогрессии исходно моноклональной опухоли происходит дальнейшее накопление мутаций, что ведет к клональному полиморфизму и усилению злокачественности. Последовательная репрессия ПКГ вызывает становление фенотипа множественной лекарственной устойчивости к химиотерапевтическим препаратам, механизм действия которых связан с активацией апоптоза. В таких условиях остановка деления и гибель опухолевых клеток возможна при индукции их «митотической катастрофы».

Т.А. Богуш, Е.А. Дудко, Е.А. Богуш, В.Ю. Кирсанов, О.В. Ковалева, М.И. Давыдов

**ТАМОКСИФЕН
 КАК ПОЛИВАЛЕНТНЫЙ ИНГИБИТОР
 МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ
 РЕЗИСТЕНТНОСТИ,
 ОПОСРЕДОВАННОЙ
 ТРАНСПОРТНЫМИ БЕЛКАМИ Pgp, MRP1 И LRP**
 ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Задачи исследования. Тамоксифен (ТАМ) является эффективным препаратом в стандартном режиме терапии рака молочной железы в качестве антиэстрогена. В то же время он обладает многими другими важными свойствами, одно из которых – «восстановление» эффективности химиотерапии при назначении ТАМ с противоопухолевыми препаратами, резистентность к которым обусловлена механизмом множественной лекарственной резистентности (MDR) – активацией транспортных белков (MDR-транспортёров: Pgp, MRPs и LRP), выбрасывающих цитостатики из клеток. Известно также, что ТАМ увеличивает цитотоксичность MDR-препаратов в культурах клеток с экспрессией Pgp. Поэтому, размышляя над причинами увеличения эффективности химиотерапии при применении ТАМ, мы предположили, что одной из них может быть ингибирование ТАМ активности MDR-транспортёров. Для проверки этого предположения изучено влияние ТАМ на взаимодействие моноклональных антител с Pgp, MRP1 и LRP.

Материалы и методы. Исследованы линии клеток человека Jurkat, HeLa и A549, экспрессирующие Pgp, MRP1 и LRP соответственно, а также клетки, полученные из образцов рака молочной железы, с установленной экспрессией MDR-транспортеров. Связывание с Pgp, MRP1 и LRP специфических антител оценивали методом проточной цитофлуориметрии с применением программы WinMDI и теста Колмогорова-Смирнова.

Результаты. ТАМ нарушает взаимодействие моноклональных антител с исследованными MDR-транспортерами *in vitro* и *ex vivo*: параметры связывания антител с Pgp, MRP1 и LRP (средняя флуоресценция и количество специфически окрашенных клеток) уменьшались до 2 и более раз. Эффект зависел от концентрации специфических антител и был наиболее выражен в области пропорциональной зависимости клеточной флуоресценции от концентрации антител. Эта область была различной в разных культурах, но действие ТАМ выявлено во всех типах клеток с фенотипом множественной лекарственной резистентности. На взаимодействие с опухолевыми клетками изотипических антител ТАМ не влиял.

Выводы. Уменьшение взаимодействия моноклональных антител с Pgp, MRP1 и LRP указывает на конкуренцию между ТАМ и MDR-препаратами за связывание с исследованными MDR-транспортерами.

Это означает, что ТАМ является поливалентным ингибитором различных транспортных белков, выбрасывающих противоопухолевые препараты из клеток, и может рассматриваться как эффективный модификатор фенотипа MDR, опосредованной экспрессией и коэкспрессией разных MDR-транспортеров, у онкологических больных.

Исследование поддержано Грантами РФФИ (№ 07-04-00082 и №08-04-13647).

Ю.Н. Бордюшков, Л.Ю. Владимирова, И.Л. Попова ПРИМЕНЕНИЕ ТРЕНТАЛА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОНКОЛОГИИ

ФГУ Ростовский НИОИ Росмедтехнологий, Ростов-на-Дону

Задача исследования. Определить влияние трентала на особенности роста опухоли и показатели крови в эксперименте.

Материалы и методы. Опыт проводился на крысах-самцах массой 200–220 г с опухолью С-45. Животные были распределены на 2 группы: I группа – основная (18 животных) – всем животным ввели внутривенно по 2 мг трентала, а через 2 ч внутрибрюшинно ввели по 10 мг циклофосфана, всего 4 введения с интервалами введения 3 дня (суммарно – 8 мг трентала и 40 мг циклофосфана); II группа – контрольная (5 животных), в которой планировали ввести внутрибрюшинно 4 раза по 10 мг циклофосфана.

Через 3 дня после последнего введения животных основной группы забили. Кровь исследовали по формуле крови, числу лейкоцитов; лимфоциты – на их синтетическую активность (коэффициент $\dot{\alpha}$), костный мозг – на синтетическую активность и синюю флуоресценцию (уровень NAD-H).

Результаты. Размер опухоли в основной группе до лечения составил $M=2,87 \pm 0,51$ и после всех введений составил $0,94 \pm 0,5$; $t=2,7$; $p<0,05$; в контрольной группе – до лечения $M=1,41 \pm 0,08$; после 2 введения $M=0,66 \pm 2,7$; после 3 введения у оставшейся одной крысы 0,3. Следует отметить, что объем опухоли у животных основной группы был больше, чем в контрольной. Таким образом, опухоль в основной группе уменьшилась в 3 раза, а в контрольной – в 2 раза, в контрольной группе также отмечалось резкое снижение продолжительности жизни. В контрольной группе после второго введения циклофосфана на фоне регрессии опухоли у крыс стали резко снижаться лейкоциты и после 3 введения из 5 животных

пало 4. Следовательно последнего введения не было. При исследовании синтетической активности лимфоцитов в основной группе было выявлено, что до введений она составляла $0,328 \pm 0,015$; после – $0,528 \pm 0,041$. При определении синтетической активности костного мозга в основной группе, было выявлено, что до введения она составляла $0,227 \pm 0,06$; после – $0,551 \pm 0,08$. Синяя флуоресценция костного мозга имела следующие показатели: до введения – $5,33 \pm 0,47$; после $22,252 \pm 3,52$.

Выводы. Возможно предположить, что используемый нами трентал не только потенцирует противоопухолевое действие цитостатиков, но оказывает и защитное действие на клетки крови и костного мозга за счет увеличения оксигенации крови, в том числе опухоли, и изменения реологических свойств крови.

Н.А. Брусенцов¹, П.И. Никитин², Ю.А. Пирогов³, В.А. Полянский⁴, Т.Н. Брусенцова^{1,2}, И.С. Голубева¹, Т.И. Ксенович², М.П. Никитин², М.В. Юрьев², А.А. Учеваткин¹, Д.А. Куприянов³, А.И. Дубина³, Д.А. Тищенко³, Е.Р. Вольтер⁵, А.В. Иванов¹

ТЕРМОХИМИОТЕРАПИЯ ОПУХОЛЕЙ НАНОПРЕПАРАТАМИ

¹ ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

² ИОФ им. А.М. Прохорова РАН

³ ЦМТС МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

⁴ НИИМ МГУ, Москва

⁵ НИИЭПИТ АН Абхазии, Сухум

Задачи исследования. Разработать магнитоуправляемые противоопухолевые нанопрепараты и регионарную термохимиотерапию опухолей с контролем содержания МПН в опухоли и в органах РЭС.

Материалы и методы. МПН синтезированы методами, описанными T.N. Brusentsova et al., 2005; T.N. Brusentsova et al., 2007. Мышам BDF₁ весом 18–21 г, разводки вивария РОНЦ, имплантируют клетки лимфоцитарной лейкемии P388. Когда объем опухолей достигает 17–33 мм³ их пальпируют и вводят в опухоли и окружающие ткани 100–300 мкл золя декстранферрита с сарколизинном или с алкераном. Соотношения вводимых компонентов: декстранферрит (ДФ) 50–120 мг, сарколизин 2–4 мкг/алкеран 2–4 мкг. У каждой мыши определяют содержания МПН в опухоли и в органах РЭС и размещают в устройстве индукционного нагрева опухолей. Опухоль ориентируют в переменном магнитном поле (частота 880 кГц, индукция 7 кА/м, мощность 0,15 кВт). При индукционном нагреве феррита за 12–15 мин температуру опухоли повышают до +42–46 °С, активируется алкилирующее средство, мембраны опухолевых клеток плавятся, содержимое клеток смешивается с МПН. Через 30 мин суспензию клеточных элементов и остатков МПН отсасывают. Процедуру ТХТ повторяют до 4 раз. Контроль содержания МПН в опухоли и в органах РЭС проводят магнитным сенсором.

Результаты. Непосредственно гипертермия индуцирует первичные, обратимые эффекты в клетках и тканях. Чтобы помочь организму справиться со злокачественными опухолями, применяют МПН и регионарную гипертермию опухолей. В качестве МПН применяют декстранферрит и суспензии ДФ, содержащие противоопухолевые антибиотики и алкилирующие агенты. Основные усилия при разработке ТХТ направлены на оптимизацию контроля содержания МПН в объеме опухоли и органов РЭС, поскольку МПН, попавшие в печень и селезенку, уменьшают терапевтический эффект ТХТ. Разработанные МПН позволяют проводить таргетинг и

контроль их содержания и распределения в организме животных. При ТХТ с контролем содержания МПН в опухоли и в органах РЭС полная регрессия опухолей Р388 наблюдается у 30 % самок мышей BDF₁, увеличение средней продолжительности жизни – на 180%.

Выводы. Разработаны магнитоуправляемые противоопухолевые нанопрепараты и технология термохимиотерапии опухолей с контролем содержания магнитоуправляемых противоопухолевых нанопрепаратов в опухоли и в органах РЭС.

Н.А. Брусенцов¹, Т.Н. Брусенцова², Ю.А. Пирогов³, П.И. Никитин⁴, В.А. Полянский⁴, А.А. Учеваткин³, Д.А. Куприянов³, А.И. Дубина³, Д.А. Тищенко³, Т.И. Ксенович², М.П. Никитин², М.В. Юрьев², Е.Р. Вольтер⁵, А.В. Иванов¹.

МАГНИТОУПРАВЛЯЕМЫЙ НАНОПРЕПАРАТ НА ОСНОВЕ АСКОРБИНАТА МАГНЕТИТА ДЛЯ МРТ

¹ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

²ИОФ им. А.М. Прохорова РАН

³ЦМТС МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

⁴НИИМ МГУ, Москва

⁵НИИЭПит АН Абхазии, Сухум

Задача исследования. Разработка МРТ–негативных контрастных нанопрепаратов на основе синтеза наночастиц аскорбината магнетита (АМ) для повышения качества визуализации первичных опухолей и метастазов на ранних стадиях опухолевого процесса.

Материалы и методы. Нами испытаны 3 водных золя, полученных на основе покрытых аскорбинатами наночастиц магнетита Fe₃O₄, которые были синтезированы по модифицированному методу (Т.Н. Brusentsova et al., 2007) соосаждением гидроксидов железа в атмосфере азота. К сырому осадку прибавили 30% вес. количество аскорбиновой кислоты и нагревали 20–30 мин при 80–90 °С и перемешивании в атмосфере N₂, до образования исходного золя, который концентрировали и суспендировали в 10%-ном растворе глюкозы.

Температурные и полевые зависимости намагниченности образцов АМ определили на экспресс- и SQUID магнитометрах, намагниченность насыщения (M_s) 5, 10 и 40% золей определили методами, описанными Т.Н. Brusentsova et al., 2007. МРТ мышей провели в ЦМТС МГУ им. М.В. Ломоносова на биоспектротомографе BIOSPEC BC 70/30 USR (Bruker).

В опытах использовали мышей BDF₁ и C57Bl/6j. Провели визуальный анализ структуры опухоли и внутренних органов (лимфатические узлы, молочные железы, мышцы, кости, легкие, почки, мочевой пузырь и печень), которые поражаются метастазами карциномы Эрлиха, лимфоцитарного лейкоза Р388; карциномы легких Льюис и аденокарциномы молочной железы Са 755.

Результаты. Испытаны 3 водных золя на основе наночастиц АМ. ЛД₅₀ разработанного АМ 0,5 г/кг при медленном введении 10%-ного золя АМ в хвостовую вену крыс, диагностическая доза 0,1 мг/кг. АМ проявляет все свойства, характерные для МРТ–негативных контрастных нанопрепаратов: при T₂ взвешенном сканировании повышает контраст первичных опухолей, границ инвазии опухолевых клеток в здоровые ткани, и метастазов.

Выводы. Разработан МРТ–негативный контрастный нанопрепарат, усиливающий изображения опухоли, внутренних органов и тканей, при T₂ взвешенном МРТ–сканировании тела животного и способствующий обнаружению метастазов и границ инвазии опухолевых клеток в здоровые ткани.

И.Н. Воронцов¹, Н.В. Келдыш¹, М.С. Базлев¹, И.С. Михеевич², Т.И. Солнцева², Т.И. Сухова², Г.К. Герасимова²

РАЗРАБОТКА МАТЕМАТИЧЕСКИХ КОМПЬЮТЕРНЫХ МОДЕЛЕЙ МЕТАБОЛИЗМА ГЛЮКОЗЫ ЖИВОЙ КЛЕТКИ

¹ИПУ им. В.А. Трапезникова РАН, Москва,

²ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН

Новые данные о различиях в транспорте и путях утилизации глюкозы в опухолевых клетках, чувствительных или устойчивых к индуцирующим апоптоз факторам, дают основание для предположения о том, что биоэнергетические пути опухолевых клеток могут рассматриваться как возможная мишень для таргетной терапии. Используя наш опыт в создании математической модели цикла фолиевой кислоты и сопряженных с ним реакций биосинтеза тимидилата, пуринов, метионина, мы поставили задачу разработать математическую модель метаболизма глюкозы в нормальных и опухолевых клетках. Работа выполняется с помощью созданной в ИПУ РАН Системы математических методов машинного моделирования «Взаимодействия», предназначенной для математического описания и анализа систем высокой сложности. Определен комплекс ферментативных реакций, подлежащих моделированию: гликолиз, окислительная и неокислительная ветви пентозофосфатного пути, цикл трикарбоновых кислот, биосинтез фосфатидилхолина, метаболизм циклических нуклеотидов. Составлена компьютерная база данных по кинетическим характеристикам ферментов этих путей, концентрациям субстратов, характеристикам известных ингибиторов. Построены математические описания этих реакций. Основные трудности в построении моделей связаны со сложностью описания и анализа происходящих в клетке отдельных звеньев биохимических процессов и их взаимодействия. Методы синтеза и исследования математических компьютерных моделей должны быть совмещены с мониторингом наблюдаемых изменений в клетках, достаточно точными методами их измерений. Такие возможности открывает использование в биохимических исследованиях глюкозы, меченой стабильным изотопом углерода, и контроль за изменениями в ее утилизации с помощью ¹³C-ЯМР спектроскопии. Анализ изменений в биоэнергетических системах клетки с помощью математической модели может дать дополнительную информацию для выявления молекулярных мишеней для химиотерапии опухолей.

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

Л.Е. Голубовская¹, Т.А. Титова², В.Н. Толкачев², З.С. Смирнова², М.А. Красильников², В.М. Ржезников¹ **ВЛИЯНИЕ НОВЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ СТЕРОИДОВ ЦИТЭСТРОЛ-АЦЕТАТА И ЕГО НИТРОКСИ-СОДЕРЖАЩЕГО АНАЛОГА НА КУЛЬТИВИРУЕМЫЕ IN VITRO КЛЕТКИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА MCF-7**

¹ГУ ЭНЦР, Москва

²ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Введение. Рак молочной железы относится к числу самых распространенных онкологических заболеваний, при этом высокий удельный вес в структуре болезни занимают гормоночувствительные опухоли. Для лечения этих опухолей широко применяют нестероидные антиэстрогены – производные трифенилэтилена тамоксифен и его аналоги. Однако длительная терапия тамоксифеном приводит к развитию резистентности к нему опухолей. Нами на основе направленно трансформированных эстрогенов синтезирован

новый класс противоопухолевых стероидов, обладающих неизвестным ранее сочетанием антиэстрогенных и цитотоксических свойств (Пат. № 2139292). Наибольшую активность показал препарат цитэстрол-ацетат, превосходящий по силе и продолжительности действия тамоксифен. В развитие этих работ синтезированы новые аналоги с нитроксильным заместителем как потенциальные доноры оксида азота, способного инициировать апоптоз опухолевых клеток, включая клетки резистентных опухолей.

Цель исследования. Изучение влияния цитэстрол-ацетата и его аналога РО-737 с нитроксильным заместителем в структуре на чувствительную (MCF-7) и резистентную к тамоксифену (MCF-7/T2) линии клеток рака молочной железы человека.

Материалы и методы. Синтез препарата РО-737 осуществлен методом, описанным (Ржезников и др., Изв. РАН, 2001) для синтеза нитроксистероидов. Клетки рака молочной железы человека MCF-7 культивировали в среде DMEM при 37 °C и 5%-ном CO₂.

Сублиния MCF-7/T2 была получена в результате длительного (60 суток) культивирования родительской линии MCF-7 в среде DMEM в присутствии тамоксифена. При оценке выживаемости опухолевых клеток при добавлении синтезированных соединений использован МТТ-тест.

Результаты. В эксперименте обнаружено, что изученные препараты обладают выраженным цитостатическим действием на обе линии клеток. Культивирование клеток как MCF-7, так и MCF-7/T2 в присутствии 10⁻⁶ М любого из препаратов (цитэстрол-ацетат или РО-737) в течение 7 суток приводит к 50 %-ному подавлению клеточного роста.

Выводы. Активность приоритетных антиэстрогено-цитостатиков на резистентной к антиэстрогенам культуре клеток рака молочной железы человека демонстрирует их высокий потенциал в качестве противоопухолевых препаратов для лечения рака молочной железы.

И.Н. Григорьева, Е.В. Степанова, О.С. Бурова, Т.К. Харатишвили, Е.Ш. Соломко, А.Ю. Барышников
КЛЕТочная ЛИНИЯ МЕЛАНОМЫ КОЖИ MEL CHER КАК ПОЛОЖИТЕЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ВАСКУЛОГЕННОЙ МИМИКРИИ
 ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Цель. Васкулогенная мимикрия – это уникальный процесс, который представляет собой образование новых кровеносных сосудов, выстланных базальной мембраной, не из эндотелиоцитов, а из клеток высокоагрессивных опухолей.

Целью настоящего исследования является отбор подходящей клеточной линии меланомы кожи как наиболее подходящей в качестве положительной модели этого феномена.

Материалы и методы. Мы протестировали 15 клеточных линий меланомы кожи, полученных от больных, проходивших лечение в РОНЦ. Были проведены эксперименты *in vitro* для определения способности клеточных линий формировать сосудистоподобные структуры и тубулярные структуры на 2- и 3-слойном матриксе. В качестве внеклеточного матрикса были использованы матригель, коллаген I и фибронектин.

Экспрессия молекулярно-биологических маркеров была определена иммуноцитохимическим методом. Клеточная линия mel Cher была перевита иммунодефицитным мышам (количество клеток – 1; 3 и 5 млн на мышь в 3 разных группах), и полученные опухолевые образцы были протестированы на наличие ВМ-структур *in vivo*. Для этого была проведена комбинированное окрашивание CD34⁺ и PAS-реакция.

Результаты. Клеточная линия mel Cher — наиболее оптимальная положительная модель васкулогенной мимикрии среди протестированных 15 клеточных линий меланомы кожи человека. Способность mel Cher к васкулогенной мимикрии была определена во всех экспериментах, проведенных *in vitro*. Данная клеточная линия обладает способностью формировать СПС и тубулярные структуры в экспериментах на двух- и трехслойном матриксе. Иммуноцитохимическим методом было определено, что mel Cher экспрессирует такие молекулярно-биологические маркеры как VEGF, VEGFR1, VEGFR2, ламинин 5gamma2, ephA2, Notch3 и c-met. Способность формировать структуры васкулогенной мимикрии была подтверждена *in vivo*. Образцы опухолей, полученные в результате двух экспериментов на иммунодефицитных мышах, были протестированы путем проведения комбинированного иммуногистохимического окрашивания на CD34⁺ и PAS-реакции, и были выявлены CD34⁺/PAS⁺ положительные структуры.

В соответствии с полученными результатами клеточная линия меланомы кожи человека mel Cher может быть использована в качестве положительной модели васкулогенной мимикрии.

Работа поддержана государственным контрактом Федерального агентства по науке и инновациям № 02.512.11.2195.

Д.В. Демидов, Т.А. Маньчева, Н.А. Плотникова, Т.В. Харитонова, С.В. Харитонов, С.П. Кемайкин, О.Н. Куликова

ВЛИЯНИЕ ЭНДОГЕННОГО ГОРМОНА МЕЛАТОНИНА НА МОДЕЛИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗА, ИНДУЦИРУЕМОГО УРЕТАНОМ И БЕНЗ(А)ПИРЕНОМ У МЫШЕЙ
 ГОУВПО «МГУ ИМ. Н.П. ОГАРЕВА», САРАНСК

Цель исследования. Изучить динамику морфологических изменений на экспериментальных моделях бенз(а)пиренового эпидермального опухолевого роста и уретанового легочного канцерогенеза у мышей под влиянием эндогенного гормона мелатонина.

Материалы и методы. Эксперименты проводились на самках нелинейных аутбредных SHR/и белых мышей массой 20–22 г. В возрасте 3 месяца 220 мышей были рандомизированно поделены на 4 группы по 50 особей. Оставшиеся 20 мышей служили интактным контролем и не подвергались каким-либо воздействиям. Животным 1-й и 2-й групп канцероген бенз(а)пирен (Fluka, Busch, Швейцария) вводился 2 раза в неделю накожно в дозе 0,2 мл на мышь в концентрации 0,05 % в растворе ацетона. Животным 3-й и 4-й групп канцероген уретан (НИИ онкологии Н.Н. Петрова МЗ и СР РФ) был введен однократно интраперитонеально в дозе 1 г/кг, растворенный в физиологическом растворе хлористого натрия. После введения канцерогена животные 1-й и 3-й групп получали питьевую воду без добавления мелатонина и составили контрольную группу по канцерогену. Животные 2-й и 4-й групп получали с питьевой водой в ночные часы (с 19.00 ч до 07.00 ч) мелатонин (Sigma, St.Louis; MS, США) в дозе 2 мг/л. Продолжительность эксперимента составила 24 нед, по окончании эксперимента все мыши декапитированы, у них взята ткань кожи для гистологических исследований.

Результаты. При введении мелатонина частота и множественность развития опухолевых узлов на коже уменьшились на 19 % (p<0,05). Наблюдалось уменьшение среднего и максимального размеров опухолей кожи, а также выраженность вторичных изменений в опухолевых узлах. Использование же мелатонина в условиях уретанового легочного канцерогенеза весьма

существенно снижает множественность развития индуцированных аденом легких у мышей – в 2,1 раза ($p < 0,05$). Анализ размеров опухолевых узлов легких показал, что под влиянием мелатонина уменьшалось, прежде всего, число крупных опухолей и аденом средних размеров, тогда как множественность мелких новообразований не изменялась.

При коррекции мелатонином индуцированного эпидермального и уретанового канцерогенеза наблюдается снижение пролиферативной активности в тканях изучаемых опухолей.

Выводы. Индолный гормон эпифиза мелатонин тормозит процессы индуцируемого уретанового канцерогенеза легких и бенз(а)пиренового канцерогенеза кожи в эксперименте.

В.П. Дерягина, Н.И. Рыжова, В.А. Юрченко
**ЭНДОГЕННОЕ ОБРАЗОВАНИЕ
 ПРОИЗВОДНЫХ NO У МЫШЕЙ
 С ХИМИЧЕСКИ ИНДУЦИРОВАННЫМИ
 И ПЕРЕВИВАЕМЫМИ ОПУХОЛЯМИ
 И ВЛИЯНИЕ МОДУЛЯТОРОВ NO-СИНТАЗ
 И ПРИРОДНЫХ ВЕЩЕСТВ
 НА РОСТ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА**

ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Введение. Экспериментальные и клинические данные показывают, что опухолевый рост часто сопровождается усилением эндогенного образования оксида азота (NO) и его производных вследствие активации индуцибельной NO-синтазы (iNOS). Избыточная продукция NO нарушает структуру ДНК, вызывая мутации, полиморфизм опухолей и др.

Имеются данные о положительной зависимости между стадией опухоли и активностью iNOS. Обнаружено, что ингибиторы iNOS могут тормозить рост опухолей на фоне снижения продукции NO.

Природные вещества с антиоксидантными свойствами также могут инактивировать образующийся NO.

Цель исследования. Изучить эндогенное образование нитросоединений в процессе индуцированного бенз(а)пиреном канцерогенеза и на модели перевивной карциномы Эрлиха, а также влияние потенциальных ингибиторов iNOS и природных веществ на рост КЭ.

Материалы и методы. Исследования проведены на двух моделях опухолевого роста: модели БП канцерогенеза у мышей F₁ (n=150) и модели перевиваемой КЭ у мышей F₁ или Balb/c (n=170).

БП предварительно растворяли в ацетоне, после чего делали еженедельные накожные аппликации в дозах 6 мкг (группа 1, n=50) или 9 мкг (группа 2, n=50) на мышь в течение 24 нед.

Мыши контрольной группы (n=50) получали аппликации с ацетоном.

Наблюдение за мышами составило 1080 дней. Верификацию опухолевого роста при индукции БП проводили по стандартной гистологической методике.

КЭ имплантировали по 10⁶ клеток на мышь. Мышей разделили на 13 групп (n=10-30).

Мыши подопытных групп (№№ 1–4) в лечебном режиме (от 8 по 25–32 дни после перевивки) получали в/б аминоксидин, N-нитро-L-аргинин (НАрг) и N^ε-метил-L-аргинин (МАрг) и п/к нитропруссид натрия в разовых дозах 140; 100; 50 мг/кг и 80 мкг/кг соответственно.

Мыши подопытных групп (№№ 5–11) в лечебно-профилактическом режиме (в течение 14 дней до перевивки и до конца опыта) получали постоянно с питьевой водой:

L-карнозин (Кр) по 2,4 мг на мышь, в/б 5 раз в нед.; гистохром (ГХ) по 0,02–0,16 мг/кг и *per os* 5 раз

в нед.; водную суспензию измельченных грибов *Lentinus edodes* (ВСГ) по 188–376 мг/кг.

Мыши контрольных групп (№№12, 13) получали физраствор в течение всего опыта. Анализ окисленных продуктов NO–НС: нитритов и нитратов в биологических жидкостях и тканях осуществляли методом Грисса.

Торможение роста опухоли рассчитывали по средним объемам или по массе опухоли. Статистическую обработку результатов проводили с использованием критериев Вилкоксона – Манна – Уитни, χ^2 , Стьюдента, регрессионного анализа.

Результаты. Показано, что у мышей с опухолями кожи, индуцированными БП, выделение с мочой НИ и НА увеличено в 7–82 раза в сравнении с контролем. В моче мышей с опухолями, получивших 216 мкг/м БП, содержание НС достигало 565 мкг/кг и положительно коррелировало с частотой опухолей в группе.

У мышей с КЭ в течение 32 дней роста опухоли экскреция НС с мочой увеличена в 10–70 раз. Определена положительная линейная зависимость между размером КЭ и количеством выделившихся НС.

У животных с КЭ содержание НИ в перитонеальной жидкости снижено на 65 %, что косвенно указывает на подавление секреции NO нейтрофилами и макрофагами. Опухолевая ткань КЭ содержала существенные количества (до 5,3 · 10⁻⁴М) НИ и НА.

Обнаружено, что НАрг и АГ снижают эндогенное образование НС соответственно на 26 и 53 % и умеренно тормозят рост КЭ до 40 % ($p < 0,01–0,05$). Лечебно-профилактическое введение ГХ и ВСГ приводило к замедлению на раннем этапе роста КЭ на 52 – 60 % ($p < 0,01$) и в случае ГХ – снижению до 35 % образование НС. Хотя Кр при введении *per os* ингибировал на 37 % образование НА и НИ, это не влияло на скорость роста КЭ у мышей и их выживаемость.

Заключение. Получены данные о многократном повышении эндогенного образования производных NO у мышей с индуцированными БП и перевивными опухолями. Опухолевая ткань, по-видимому, является основным источником образования NO.

Ингибиторы активности iNOS имеют определенный противоопухолевый потенциал, в связи с чем поиск более избирательных ингибиторов перспективен. ГХ и ВСГ замедляют развитие КЭ, но разнонаправленно действуют на образование НС, что может быть связано с особенностью опухолевого роста в период оценки НС.

*В.В. Жданов¹, Н.Н. Ермакова¹, Е.В. Симанина¹,
 Л.А. Ставрова¹, Т.В. Фирсова¹, Е.С. Хмелевская¹,
 Е.И. Верещагин², П.Г. Мадонов², Д.Н. Киниш²*
**ВЛИЯНИЕ ИММОБИЛИЗИРОВАННОГО
 ГРАНУЛОЦИТАРНОГО
 КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА
 НА ГРАНУЛОМОНОЦИТОПЭЗ В
 УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
 МИЕЛОСУПРЕССИИ**

¹ГУ НИИ ФАРМАКОЛОГИИ ТНЦ СО РАМН, ТОМСК

²ООО «СФМ», Новосибирск

Препараты Г-КСФ широко используют для профилактики и лечения различных видов нейтропений, в том числе восстановления гемопоэза у онкологических больных, получивших цитостатическую ХТ.

Между тем применение Г-КСФ во многом ограничено наличием у него достаточно большого спектра побочных эффектов и отсутствием возможности приема внутрь.

С помощью нанотехнологии радиационного синтеза был получен иммобилизованный Г-КСФ на полиэтиленгликоле низкой молекулярной массы, благодаря изменению фармакокинетических и фармакодинамических параметров, конъюгат обладает низкой иммуногенностью и достаточной биодоступностью при пероральном введении.

Целью настоящего исследования явилось сравнительное изучение гранулоцитопозстимулирующей активности иммГ-КСФ и стандартного препарата рекомбинантного человеческого Г-КСФ в условиях миелосупрессии, вызванной введением ЦФ.

В эксперименте использовали стандартные гематологические и культуральные методы. Препарат модифицированного Г-КСФ вводили подкожно и перорально по 100 мкг/кг/сутки мышам линии СВА/СаЛас в течение 5 и 10 дней соответственно, препарат стГ-КСФ вводили подкожно 5 дней по 100 мкг/кг/сутки.

В ходе проведенных экспериментов было установлено, что иммГ-КСФ способствовал накоплению нейтрофильных гранулоцитов в системе крови в условиях введения циклофосфана. При подкожном введении действие препарата проявляется в период миелосупрессии и регенерации гранулоцитарного ростка (сопоставимо с эффектом стандартного препарата Г-КСФ), при пероральном введении проявление специфической активности задерживается на сутки. В основе стимуляции гранулоцитопоза пегилированным Г-КСФ лежат повышение темпов деления и созревания грануломоноцитарных клеток-предшественников и восстановление активности прилипающих клеточных элементов гемопоэз-индуцирующего микроокружения (формирование гранулоцитарных гемопоэтических островков и продукция колониестимулирующей активности). Таким образом, иммГ-КСФ обладает гранулоцитопозстимулирующим действием при энтеральном и парентеральном приеме, что указывает на большие перспективы использования препарата в клинической практике.

Ю.П. Истомин, Э.А. Жаврид, С.В. Петрович,
О.П. Сергеева, Е.Н. Александрова, Г.И. Коробцова

ТЕРМОХИМИОТЕРАПИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

ГУ РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, Минск

Цель исследования. Разработать метод лечения злокачественных опухолей яичников с использованием общей гипертермии, гипергликемии и химиотерапии; провести его доклинические исследования.

Материалы и методы. В эксперименте *in vitro* на культуре опухолевых клеток HeLa и *in vivo* на белых беспородных крысах с асцитной опухолью яичника исследовали эффективность термохимиотерапии. Общую гипертермию (42 °С, 30 мин) животным проводили в состоянии наркоза, в водяной бане ультратермостата, сразу после введения ХТ, на фоне индуцированной гипергликемии (10 г/кг глюкозы в/в в течение 3 ч).

Результаты. Гипертермия незначительно угнетала рост культуры опухолевых клеток и асцитной опухоли яичника у крыс. При термохимиотерапии наблюдалось усиление цитостатического эффекта винорельбина, карбоплатина, ифосфамида, оксалиплатина – в >4 раза; доксорубина, гемцитабина – в >2 раза. Цитотоксическое действие возрастало только при сочетании с гипертермией винорельбина, карбоплатина, оксалиплатина или доцетаксела, при этом коэффициент усиления не превышал 1,4. В условиях общей гипертермии и гипергликемии *in vivo* выявлены высокоэффективные химиотерапевтические препараты: циклофосфамид, ифосфамид, карбоплатин, доксорубин, винорельбин, гемцитабин, оксалиплатин, этопо-

зид, противоопухолевая активность которых возрастала, по показателям торможения роста опухоли и/или продолжительности жизни крыс с асцитной опухолью яичника. Эффективность комбинированного применения цитостатиков в условиях гипертермии также значительно увеличивалась.

Т.А. Кармакова, Р.И. Якубовская

ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫЙ МУЦИН MUC1: НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЭПИТЕЛИЯ

ФГУ МНИОИ им. П.А. ГЕРЦЕНА, МОСКВА

MUC1 — мембранный высокомолекулярный гликопротеид, продуцируемый клетками однослойного эпителия и опухолями эпителиального происхождения. Высокая экспрессия MUC1 и деполяризованная внутриклеточная локализация MUC1 ассоциированы с агрессивным биологическим поведением злокачественной опухоли и неблагоприятным прогнозом у онкологических больных. Результаты исследований, проведенных нами с использованием моноклональных антител к MUC1 у больных с заболеваниями молочной железы, легкого и шейки матки, показали, что аномальная экспрессия MUC1 в эпителии ассоциирована с ранними этапами развития неоплазии; неполяризованная экспрессия MUC1 в сочетании с дисплазией и/или метаплазией указывает на высокий риск прогрессии внутриэпителиальных нарушений; аномальное внутриклеточное распределение MUC1 косвенно свидетельствует о внутриклеточной инфекции.

Обобщение полученных данных и известных сведений в отношении функциональной активности внеклеточного и цитоплазматического (ЦД) доменов молекулы MUC1, а также анализ научных публикаций о значении MUC1 в защите эпителия от патогенов, позволили сформировать принципиально новый взгляд на роль MUC1 в патогенезе злокачественных новообразований эпителия.

Так, мы предполагаем, что в клетке, инфицированной онкогенным вирусом, в результате нарушения ее полярности реализуется взаимодействие ЦД MUC1 с белками базо-латеральной мембраны.

Это приводит, в частности, к искажению работы связанных с бета-катенином всех сигнальных систем и нарушению дифференцировки.

Устойчивая высокая экспрессия MUC1 в поверхностной мембране, которую может обеспечивать встраивание ДНК вируса в MUC1-кодирующий участок генома клетки-хозяина, создает условия для дальнейшего успешного формирования злокачественного фенотипа.

Таким образом, деполяризованная экспрессия MUC1 в клетках опухоли и аномальная экспрессия MUC1 в прилежащем эпителии, могут косвенно указывать на вирус-опосредованный этиопатогенез новообразования.

Выделение в группу риска пациентов с аномальным характером экспрессии MUC1 в макроскопически неизменном эпителии может повысить эффективность диагностики предопухолевых изменений и начальных форм рака.

В этих же случаях может стать целесообразным применение средств и воздействий, направленных на элиминацию вируса и активацию иммунных противовирусных реакций в целях снижения риска рецидивов и метастазных опухолей.

Работа выполнена при финансовой поддержке Правительства Москвы.

Е.С. Клинцова, Т.Г. Щербатюк

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ХИМИОТЕРАПИИ С ПОМОЩЬЮ ОЗОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ (экспериментальное исследование)

ГОУ ВПО НИЖГМА РОСЗДРАВА, НИЖНИЙ НОВГОРОД

Цель исследования. Разработка методов и спосо-

бов озонных технологий, повышающих эффектив-

ность действия 5-фторурацила и доксорубина.

Материалы и методы. Животным с гепатомой 27 и гепатомой Зайделя вводили 5-ФУ в дозе 500 мг/м² в/м и озонированного физиологического раствора с концентрацией озона в озono-кислородной смеси 0,2 мг/л в/б общим курсом 10 дней (введение озона чередовалось с введением химиопрепарата). ДР в дозе 60 мг/м² и 30 мг/м² вводили в/в крысам с ГЗ на 12-е сутки роста опухоли. Предварительно с 7-х суток ежедневно вводили ОФР в/б (0,2 мг/л). Оценку противоопухолевого эффекта проводили по массе опухоли после эвтаназии животных под эфирным наркозом. Были проведены биохимические и морфологические исследования.

Результаты. Показано, что совместное введение ОФР (0,2 мг/л в/б) и 5-ФУ (500 мг/м² в/м) крысам с перерывом Г-27 и ГЗ общим курсом 10 дней тормозит рост опухоли на 54 и 66 %; увеличивает продолжительность жизни на 62 и 86 % соответственно. Комбинированное введение ОФР и ДР в дозе 1,2 мг/кг и уменьшенной дозе (0,6 мг/кг веса) в/в крысам с ГЗ общим курсом 7 дней тормозит рост опухоли на 56 и 54 % соответственно.

Совместное применение ОФР и 5-ФУ приводит к большей коррекции проантиоксидантного баланса организма: интенсивности хемилюминесцентного свечения, уровня окислительной модификации белков, общей антиоксидантной активности, и активности супероксиддисмутазы и каталазы плазмы крови животных в условиях роста Г-27 и ГЗ. Совместное использование озонированного ОФР и ДР снижает интенсивность хемилюминесцентного свечения, продуктов перекисного окисления липидов, активность СОД и каталазы.

Эффективность комбинированного введения озono- и химиотерапии крысам с Г-27 и ГЗ отражается в морфологической структуре фазии плазмы крови. Выявлена высокая корреляционная взаимосвязь между показателями свободнорадикальной активности и кристаллооптическими характеристиками плазмы крови. Эти показатели: максимальная интенсивность хемилюминесценции/количество и ширина трещин; общая антиоксидантная активность/количество и ширина трещин; ширина периферической зоны/содержание альдегид- и кетондинитрофенилгидразонов; п морщин/уровень оАОА.

В.П. Краснов¹, Г.Л. Левит¹, Д.А. Груздев¹, А.М. Дёмин¹, И.В. Бажов², В.А. Ольшеская², В.Н. Калинин²
СИНТЕЗ ПСЕВДО-ДИПЕПТИДОВ (3-АМИНО-1,2-ДИКАРБА-КЛОЗО-ДОДЕКАБОРАН-1-ИЛ)УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ, ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ АГЕНТОВ ДЛЯ БОР-НЕЙТРОНОЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ

¹ИОС им. И.Я. Пастовского УрО РАН, Екатеринбург

²ИЭС им. А.Н. Несмеянова РАН, Москва

Бор-нейтронозахватная терапия – современный эффективный подход в лечении опухолевых заболеваний. Селективная доставка бора в опухоль, необходимая для успешного проведения БНЗТ, возможна с использованием клозо-карбораносодержащих аналогов биомолекул (нуклеозидов, порфиринов, аминокислот и др.). Известно, что важными субстратами клеток новообразований являются аминокислоты и пептиды.

Задача исследования – синтез производных (3-амино-1,2-дикарба-клозо-додекаборан-1-ил)уксусной кислоты – борсодержащего структурного аналога ГАМК.

Карбодиимидный метод: получены псевдодипептиды (3-ациламино-1,2-дикарба-клозо-додекаборан-1-ил)уксусных кислот и природных аминокислот. Исследован диастереомерный состав полученных амидов, в ряде случаев диастереомеры выделены в оптически чистом виде. Проведено избирательное удаление С- и N-защитных групп полученных производных с сохранением клозо-карборанового фрагмента. Синтезированы трипептиды, включающие остаток орто-карборана. Разработаны методики направленного синтеза производных L-аминокислот, несущих остаток клозо-карборана в составе боковой цепи. Получены продукты присоединения L-лизина к (3-амино-1,2-дикарба-клозо-додекаборан-1-ил)уксусной кислоте, а также -амид L-глутаминовой кислоты с 3-амино-орто-карбораном, которые имеют свободные -амино- и карбоксильную группы.

Строение всех производных подтверждено набором физико-химических методов. Полученные соединения являются потенциальными агентами для БНЗТ. Планируется исследование их биологических свойств.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 07-03-00684), а также в рамках Государственной программы поддержки ведущих научных школ (грант НШ 3758.2008.3).

Н.Ю. Кульбачевская, О.И. Коняева, Н.П. Ермакова, В.М. Бухман

СДТ С ТЕРАФТАЛОМ В СОЧЕТАНИИ С КОМБИНАЦИЕЙ ДОКС+ЦП НА СОБАКАХ

ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Целесообразность сочетания сонодинамической терапии с химиотерапией основана на усилении цитотоксических эффектов различных химических соединений при локальном ультразвуковом воздействии на опухоль. В эксперименте установлено: терафтал, использованный в качестве соносенсибилизатора, повышает избирательность повреждающего действия УЗ на опухоль.

Цель исследования. Доклиническое токсикологическое изучение сочетания комбинации ДОКС+ЦП с СДТ – сенсibilизация ТФ с последующим УЗ-воздействием на собаках.

Материалы и методы. Работы проведены на 14 собаках породы «английский бигль». Для работы была модифицирована установка «УСДТ» (адаптированная к изучению СДТ на крупных животных). Использовали фиксированный режим УЗ: озвучивание с 2 полей. Поле 1: $v = 2,64$ МГц, интенсивность – 2 Вт/см^2 . Поле 2: $v = 0,88$ МГц, интенсивность – 1 Вт/см^2 (суммарная интенсивность 3 Вт/см^2). Время воздействия во всех исследованиях – 10 мин на наружную поверхность бедра. Функциональную и гистологическую оценку влияния УЗ и ДОКС+ЦП+ТФ+УЗ на органы и ткани проводили после однократного воздействия. Оценивали системное и локальное воздействие УЗ.

Результаты. УЗ не вызывает местно-раздражающего действия (локальной токсичности) у животных, не оказывает влияния на поведенческие реакции, функциональное состояние органов и систем организма собак и не вызывает в них морфологических изменений. УЗ и ТФ не изменяют клиническую картину интоксикации, вызванную применением комбинации ДОКС+ЦП.

УЗ и ТФ не увеличивают токсического действия ДОКС+ЦП на периферическую кровь, печень, поджелудочную железу, сердечно-сосудистую систему животных, не усугубляют морфологические изменения, характерные для действия этой комбинации, и не влияют на обратимость изменений во внутренних органах животных. Но УЗ и ТФ незначительно увеличивают токсическое действие ДОКС+ЦП на функциональное состояние почек, вызывая на 7–14-е сутки, помимо обратимого роста уровня мочевины, обратимый рост уровня креатинина в 1,5 раза.

Заключение. Сочетание СДТ, сенсibilизированной ТФ, с химиотерапевтической комбинацией ДОКС+ЦП может быть рекомендовано для клинических испытаний.

А.В. Куролес¹, Д.В. Новиков¹, Е.Ю. Конторщикова²,
К.А. Коровушкина², П. А. Будай², О.В. Уткин¹,
Н.А. Сахарнов¹, А.В. Алясова, В.В. Новиков¹

ИССЛЕДОВАНИЕ МАТРИЧНОЙ РНК, КОДИРУЮЩЕЙ ВНУТРИКЛЕТОЧНУЮ ЧАСТЬ FAS-АНТИГЕНА В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ

¹НИИ Молекулярной биологии и региональной экологии
ННГУ имени Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород

²ГОУ ВПО НИЖГМА РОСЗДРАВА, НИЖНИЙ НОВГОРОД

Задачи исследования. Нарушения экспрессии Fas-антигена часто обнаруживаются при злокачественных опухолях. Задачей работы явилось исследование участка мРНК, кодирующего домен смерти Fas-антигена в клетках опухолевого очага больных раком толстой кишки, аденокарциномы и миомы тела матки.

Материалы и методы. Участок мРНК Fas-антигена, кодирующий цитоплазматический регион, амплифицировали методом ОТ-ПЦР с использованием оригинальных праймеров. Полученную кДНК анализировали с помощью электрофореза в агарозном геле и использовали для секвенирования нуклеотидной последовательности.

Результаты. Для решения поставленной задачи был подобран оригинальный праймер, комплементарный месту соединения 5 и 6 экзонов, который позволял амплифицировать матричные РНК, кодирующие полноразмерную и альтернативную формы мембранного Fas-антигена. У 18 тестированных больных с аденокарциномой и миомой тела матки обнаруживалась только мРНК полноразмерной мембранной формы Fas. В клетках опухолевого очага больных раком толстой кишки в одном из двух образцов в дополнение к полноразмерной детектировалась альтернативная мембранная форма мРНК Fas-антигена с делецией 8 экзона (FasExo8Del). Альтернативная форма мРНК FasExo8Del кодирует последовательность, соответствующую белку, у которого отсутствует домен смерти. Он может препятствовать проведению сигнала апоптоза внутрь клетки.

Анализ первичной структуры мРНК полноразмерной мембранной формы Fas-антигена, выявленной в другом образце опухолевых клеток рака толстого кишечника, показал наличие значимой мутации, приводящей к замене аспарагиновой кислоты на глицин в области, кодирующей домен смерти. Предположительно, данная замена влияет на конформацию белка и нарушает передачу цитотоксического сигнала внутрь клетки.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют о том, что при раке толстого кишечника опухолевые клетки могут уходить от Fas-зависимого апоптоза путем альтернативного сплайсинга и мутагенеза участка мРНК Fas, кодирующего домен смерти. В клетках аденокарциномы и миомы тела матки альтернативных форм мРНК Fas с делецией 8 экзона обнаружено не было.

В.П. Лебедев

О ВОЗМОЖНОСТЯХ ПРИМЕНЕНИЯ НЕИНВАЗИВНОЙ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ ЭНДОРФИННЫХ СТРУКТУР МОЗГА (ТЭС-ТЕРАПИИ) В ОНКОЛОГИИ

ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ ИМ. И.П. ПАВЛОВА РАН,
САНКТ-ПЕТЕРБУРГ

Задачи исследования. Принято считать, что онкологическим больным физиотерапевтические воздействия не рекомендуются. Задача настоящей работы состояла в доказательстве того, что ТЭС-терапия с ее анальгетической активностью и многосторонним гомеостатическим эндорфинергическим влиянием может быть с успехом использована у онкологических больных. По литературным данным известно, что опиоидные пептиды в определенных концентрациях

могут оказывать тормозящее влияние на рост опухолевых клеток разного типа *in vitro*.

Материалы и методы. В экспериментах определяли влияние 2–3 ежедневных сеансов ТЭС роста следующих перевивных опухолей у крыс и мышей: саркома-45, карциносаркома Уокера 256, лимфосаркома Плиса, гепатома-27, асцитная опухоль яичников, гепатома-22, меланома В-16, асцитная опухоль Эрлиха. На опухолях крыс – карциносаркоме Уокера 256 и лимфосаркоме Плиса – изучали влияние ТЭС на эффективность противоопухолевого действия препаратов платины, винбластин, метотрексат, циклофосфан, 5-ФУ. Противоболевой эффект ТЭС-терапии (10 ежедневных сеансов) оценивали у 1080 онкологических больных с болевыми синдромами разной выраженности с опухолями молочных желез, матки и ее придатков, толстой и прямой кишки, легких и средостения, желудка и пищевода, челюстно-лицевой области, почек, мочевого пузыря, простаты и др. (стадии III–IV, часть больных после операций и ХТ).

Результаты. ТЭС в анальгетическом режиме вызвала интенсивное торможение роста всех видов изученных перевивных опухолей у крыс и мышей, даже такой медленно растущей опухоли как саркома-45. ТЭС усиливала противоопухолевые эффекты винбластин, циклофосфана и 5-фторурацила и на влияла на эффекты платина и метотрексана. Наличие противоопухолевого эффекта ТЭС в эксперименте позволило применить метод ТЭС-терапии у онкологических больных. Устойчивое устранение болей после курса ТЭС-терапии (до 2 и более мес.) наблюдали у 743 (68,8%) больных, умеренное (от 1 до 3 нед) – у 212 (19,6 %), отрицательный результат отмечен у 125 (11,6%). У большинства пациентов после курса ТЭС-терапии отмечено улучшение сна, работы желудочно-кишечного тракта, купирование депрессии, повышение настроения и показателей качества жизни. ТЭС-терапию также проводили родственникам для купирования «синдрома утраты».

Выводы. ТЭС-терапия может быть обоснованно и с успехом использована для купирования болевых синдромов у онкологических больных. Разработанные нами с использованием принципов доказательной медицины аппараты для ТЭС-терапии производятся серийно и более 25 лет используются в лечебной практике.

К.А. Лопатина, О.А. Румпель

ВЛИЯНИЕ ТИОФАНА НА ПРОТИВООПУХОЛЕВУЮ АКТИВНОСТЬ ПАКЛИТАКСЕЛА

ГУ НИИ ФАРМАКОЛОГИИ ТНЦ СО РАМН, ТОМСК

Задача исследования. Оценить влияние антиоксиданта тиофана, снижающего гемо- и гепатотоксичность паклитаксела, на его противоопухолевую активность на модели карциномы легких Льюис у мышей.

Материалы и методы. Эксперимент проводили на 36 мышках линии С57В1/6 с карциномой легких Льюис, перевитой внутримышечно по 4–6×10⁶ опухолевых клеток в 0,1 мл физиологического раствора. Тиофан вводили внутривенно в дозе 200 мг/кг, начиная с 3 суток после перевивки опухоли в течение 14 дней. Противоопухолевый препарат паклитаксел (Митотакс, Dr.Reddy's, Индия) вводили однократно внутривенно в дозе 10 мг/кг на 8-е сутки роста опухоли. Животные с опухолями были разделены на 3 группы по 12 особей в каждой:

1. контрольная, получающие соответствующие растворители;
2. получающие паклитаксел;
3. получающие паклитаксел в сочетании с тиофаном.

В конце эксперимента (18-й день после перевивки) определяли массу первичной опухоли, подсчитывали количество и площадь метастазов в легких, вычисляли процент торможения роста опухоли, частоту и торможение метастазирования. Результаты обрабатывали, используя непараметрические критерии статистики.

Результаты. Введение тиофана не влияло на противоопухолевую активность паклитаксела в отношении первичного опухолевого узла. Масса метастазов при введении цитостатика составляла 114,17 16,30 мг (в контроле – 130,36 22,09 мг), при добавлении в схему лечения тиофана – 91,08 18,86 мг. Торможение метастазирования на фоне введения одного цитостатика составляло 12,42 %, цитостатика в комбинации с антиоксидантом – 30,13 %.

Выводы. Таким образом, многократное введение антиоксиданта тиофана мышам с карциномой легких Льюис, леченных паклитакселом, не изменяет противоопухолевый эффект цитостатика, что свидетельствует о целесообразности применения тиофана в химиотерапии опухолей в качестве модификатора его биологических реакций.

Г.Я. Марьяновская, Л.П. Барсукова, Е.А. Шейко, Д.В. Леонтьева, Т.А. Куркина, А.И. Шихлярова

ВОЗМОЖНОСТИ НИЗКОДОЗНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ ПОЗДНИХ СРОКОВ РАЗВИТИЯ ФГУ РОСТОВСКИЙ НИОИ, РОСТОВ-НА-ДОНУ

В развитии подхода к лечению далеко зашедших нерезектабельных форм рака мы учитывали, прежде всего, нелинейные эффекты чувствительности опухоли к дозам химиопрепаратов, значительно меньших, чем терапевтические. Кроме того, использовалась возможность повышения эффективности лечения в условиях сочетания полимодальных факторов, имеющих различную (химическую, физическую) природу воздействия. С целью проведения экспертной оценки противоопухолевого эффекта и коррекции состояния защитных систем организма при аутогемохимиотерапии (АГХТ) прогрессирующих опухолей на модели саркомы-45 поздних сроков развития (начальный объем опухоли до 12 см³) было изучено влияние сочетания воздействий циклофосфана (ЦФ) в дозах в 2 и 5 раз меньших, чем терапевтические, а также низкоинтенсивного лазерного излучения с λ 670 нм. В результате сопоставления совокупности критериев противоопухолевого эффекта (Т% – процент торможения роста опухоли, ИЭ – индекс эффективности, К – коэффициент активности, ИР – индекс роста опухоли) между группами с введением ЦФ в дозах 10; 5 и 2 мг на 100 г веса крысы в сочетании с лазерным облучением чрескожно бедренной вены и контролем выяснилось следующее. В идентичных условиях лазерного облучения ($W=0,12$ Дж/см²) при вариации дозы ЦФ было выявлено, что наибольшие значения Т%, ИЭ и К отмечались в группах с терапевтической (I группа) и минимальной дозой химиопрепарата (III группа).

Через неделю после начала воздействий Т% в I группе превышал значения в III группе на 24 %, и эта динамика сохранялась до конца эксперимента. В тот же период степень регрессии опухоли в III группе опережала показатели I группы в 1,5 раза. Позитивную динамику стабилизации и регрессии С-45 поздних сроков развития демонстрировали показатели ИЭ и К, которые достоверно отличались от контроля.

В группах с применением малых доз ЦФ показатели продолжительности жизни превышали таковые в 1,2 раза у крыс-опухоленосителей, получавших терапевтическую дозу ЦФ и в 1,6 раз – контрольных крыс. Модулирующее влияние лазерного облучения про-

явилось в активизации неспецифических гуморальных факторов защиты.

Судя по показателям лизосомально-катионного теста нейтрофильных гранулоцитов, уровень цитохимического коэффициента в группах с применением ЦФ в терапевтической, а также в 2 и в 5 раз меньших дозах возрос относительно контроля в 1,3; 2,3 и 2,8 раз соответственно.

Учитывая сдерживающее рост опухолей поздних сроков развития влияние малых доз цитостатика и активизирующее неспецифическую резистентность действие фототерапии можно рассчитывать на возможность использования данной тактики лечения нерезектабельных форм рака для продления и улучшения качества жизни.

И.Б. Меркулова, Т.В. Абрамова, О.И. Коняева, Н.Ю. Кульбачевская, Н.П. Ермакова, В.М. Бухман **ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ СОБАК ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ СДТ С ТЕРАФТАЛОМ-ЛИО ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ КОМБИНАЦИИ ДОКСОРУБИЦИНА И ЦИСПЛАТИНА** ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Цель исследования. Патоморфологическое исследование внутренних органов собак после однократного применения сонодинамической терапии с терафталом-лио при использовании комбинации доксорубицина и цисплатина – Докс+Цп+ТФ+СДТ – в сравнении с применением СДТ, Докс+Цп, Докс+Цп+ТФ и Докс+Цп+СДТ.

Материалы и методы. Использовано 14 собак породы «английский бигл» обоего пола, получавших Докс+Цп+ТФ+СДТ, СДТ, Докс+Цп, Докс+Цп+ТФ, Докс+Цп+СДТ. Препараты вводили однократно внутривенно в дозах, соответствующих ВНТД. СДТ применяли локально однократно на область бедра задней лапы в течение 10 минут.

Эвтаназию проводили на сутки 7 и 60 опыта. На аутопсии были взяты участки головного мозга, сердца, легких, печени, почек, желудка, тонкого и толстого кишечника, лимфатических узлов, селезенки, поджелудочной железы, надпочечников, половых желез, мочевого пузыря, щитовидной железы, головного мозга. Материал подвергали общепринятой гистологической обработке.

Результаты. Через 7 суток после однократного применения Докс+Цп+ТФ +СДТ у собак в легких, сердце, печени, семенниках, почках, селезенке, лимфатических узлах обнаружены умеренные деструктивно-дистрофические, воспалительные или атрофические изменения различной степени; в желудке, поджелудочной железе, тонкой и толстой кишке, мочевом пузыре десквамативные и воспалительные изменения соответствовали фоновым (СДТ).

К 60 суткам практически полная обратимость изменений отмечена в легких, печени, лимфатических узлах и селезенке, а в остальных органах была неполной – остаточные признаки повреждений сохранялись у 1 или 2 собак в почках, в сердце, а также фоновые изменения сохранялись в желудке, поджелудочной железе, а также в тонкой и толстой кишке.

Морфологическая картина внутренних органов собак этой группы не отличалась от морфологической картины внутренних органов собак после применения Докс+Цп, Докс+Цп+ТФ и Докс+Цп+СДТ.

Выводы. Однократное применение сонодинамической терапии с терафталом-лио при использовании комбинации доксорубицина и цисплатина не усиливает повреждающего действия комбинации доксорубицина и цисплатина на внутренние органы собак.

П.И. Никитин¹, Н.А. Брусенцов², Ю.А. Пирогов³,
В.А. Полянский⁴, М.П. Никитин⁵, Е.Р. Вольтер⁶,
Т.Н. Брусенцова¹, Т.И. Ксенович¹, М.В. Юрьев⁵,
А.А. Учеваткин³, Д.А. Куприянов³, А.И. Дубина³,
Д.А. Тищенко³, А.В. Иванов²

ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ ТАРГЕТИНГА МАГНИТОУПРАВЛЯЕМЫХ НАНОПРЕПАРАТОВ В ОРГАНИЗМЕ ЖИВОТНЫХ В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ

¹ИОФ ИМ. А.М. ПРОХОРОВА РАН, МОСКВА

²ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

³ЦМТС МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

⁴НИИМ МГУ, Москва

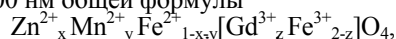
⁵МФТИ ГУ, Москва

⁶НИИЭПит АН Абхазии, Сухум

Задача исследования. Разработка неинвазивного магнито-сенсорного определения магнитоуправляемых нанопрепаратов в организме животных, распределения МН в опухоли и в здоровых тканях для повышения качества магнитогидродинамической термохимиотерапии первичных опухолей на ранних стадиях опухолевого процесса.

Материалы и методы. Нами испытаны по 3 водных золя МН, полученных на основе покрытых декстраном наночастиц магнетита Fe₃O₄ и замещенных ферритов. При внутриаптериальном регионарном введении МН в сильном неоднородном постоянном магнитном поле проведена направленная доставка (таргетинг) в требуемые участки живого организма. Существующие методы определения нанопрепаратов в организме животных не позволяют количественно оценить их содержание в опухоли, печени и других органах в реальном времени. В ИОФ РАН разработан прибор «БиоМаг» для неинвазивного исследования распределения МН в тканях живых организмов на глубине до 20 мм при помощи индукционной системы, находящейся вне организма. Глубина детекции МН в живом организме может быть существенно увеличена. Прибор также использовался для количественных исследований МН в тканях *ex vivo*.

Результаты. Метод основан на детекции МН по их нелинейному отклику при воздействии магнитным полем на двух частотах и регистрации отклика на комбинаторных частотах. Порог чувствительности составляет 3 нг МН, что совпадает с уровнем чувствительности МН на основе изотопов ⁵⁹Fe по -излучению. Мышей или крыс с опухолями размещали в неоднородном постоянном магнитном поле с индукцией 0,2–7,0 Тл и градиентом 0,01–0,35 Тл/см. Вводимый золь МН включал декстранферрит и наночастицы диаметром 10–900 нм общей формулы



где 0 < x < 1, 0 < x < 1, 0 < z < 1.

Выводы. Сканирование тел экспериментальных животных магнитным сенсором «БиоМаг» позволило количественно оценить распределение МН в опухоли, органах и тканях не только в нормальных условиях, но и при магнитоуправляемом таргетинге противоопухолевых лекарственных препаратов в ННПМ.

Д.В. Новиков¹, Т.В. Белова¹, Е.Ю. Конторицкова²,
А.В. Калугин¹, К.А. Коровушкина², В.В. Новиков¹

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МРНК MAGE-A(1-6), NY-ESO-I И GAGE 1-8 АНТИГЕНОВ В КЛЕТКАХ ОПУХОЛЕВОГО ОЧАГА МИОМЫ И РАКА ТЕЛА МАТКИ

¹НИИ Молекулярной биологии и региональной экологии
ННГУ имени Н. И. Лобачевского, Нижний Новгород

²ГОУ ВПО НИЖГМА РОСЗДРАВА, НИЖНИЙ НОВГОРОД

Введение. Среди маркеров, используемых для выявления и прогнозирования течения неопластического

процесса, выделяют группу белков, экспрессируемых опухолевыми клетками и названных раково-тестикулярными (cancer/testis) антигенами.

Задачи исследования. Оценить частоту обнаружения мРНК раково-тестикулярных антигенов MAGE-A(1-6), NY-ESO-I и GAGE 1-8 в клетках опухолевых очагов при злокачественных и доброкачественных новообразованиях тела матки.

Материалы и методы. В работе исследовали 11 образцов опухолевого очага миомы тела матки и 8 образцов опухолевого очага больных раком тела матки. мРНК раково-тестикулярных антигенов выявляли методом ОТ-ПЦР с использованием специфических праймеров.

Результаты. В образцах клеток опухолевого очага миомы тела матки мРНК MAGE-A(1-6) выявлена в 45,5 % случаев (5 из 11), мРНК NY-ESO-I – в 81,8 % случаев (9 из 11). Суммарная частота обнаружения мРНК раково-тестикулярных антигенов составила 90,9 % (10 из 11). В опухолевых очагах больных раком тела матки мРНК MAGE-A(1-6) и NY-ESO-I выявлена в 62,5 % (5 из 8) и 87,5 % (7 из 8) случаях соответственно. Общая частота обнаружения мРНК равнялась 100 %. Ни в одной из исследуемых проб мРНК GAGE 1-8 обнаружена не была.

Выводы. Матричная РНК раково-тестикулярных антигенов MAGE-A(1-6) и NY-ESO-I с высокой частотой встречается в клетках опухолевых очагов как при доброкачественных новообразованиях тела матки, так и при злокачественной трансформации. Одновременное обнаружение спектра мРНК раково-тестикулярных антигенов с помощью биочипа может иметь мониторинговое значение.

Н.А. Плотникова, С.П. Кемайкин, С.В. Харитонов,
О.Н. Куликова, Т.В. Харитоновна, Я. С. Лукьянова,
Г.М. Веснушкин

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ МЕКСИДОЛА И МЕЛАТОНИНА НА МОДЕЛИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО УРЕТАНОВОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗА

ГОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарева», Саранск

Цель исследования. Изучить антиоксидантное действие синтетического производного 3-оксипиридина – мексидола – и эндогенного гормона мелатонина в условиях экспериментального уретанового канцерогенеза.

Материалы и методы. Эксперименты проводились на белых мышах (200 мышей). Материалом исследования являлась кровь экспериментальных животных. Оценку активности ПОЛ проводили по содержанию одного из конечных продуктов свободно-радикальной реакции липоперекисления – малонового диальдегида, Fe-МДА и активности каталазы, как показателя протекторных свойств клеток. В экспериментальных исследованиях для коррекции канцерогенного эффекта использовали естественный антиоксидант мелатонин и синтетическое производное 3-оксипиридина – мексидол.

Результаты. На фоне введенного уретана у 100 % мышей контрольной группы возникали множественные мультицентричные аденомы. Среднее количество аденом у одного животного составило 22,0 ± 3,2.

Изучение динамики изменений биохимических данных показало, что по сравнению с интактными в группе контрольных животных отмечается достоверное увеличение содержания МДА с 1,44 ± 0,02 мкмоль/л до 4,7 ± 0,02 мкмоль/л (p < 0,05) в плазме крови и с 12,82 ± 0,17 мкмоль/л до 18,3 ± 0,12 мкмоль/л (p < 0,05) в эритроцитах.

При коррекции канцерогенного эффекта уретана мексидолом наблюдалось достоверная зависимость снижения уровня МДА в плазме в зависимости от величины дозы применяемого антиоксиданта.

Так, при использовании мексидола в дозе 10,0 мг/кг отмечено уменьшение показателей МДА до 2,95 0,02 мкмоль/л ($p < 0,05$); в дозе 1,0 мг/кг – до 2,1 0,01 мкмоль/л ($p < 0,05$); наиболее значимое снижение МДА выявлено при введении данного препарата в дозе 0,1 мг/кг – 1,32 0,04 мкмоль/л ($p < 0,05$).

Применение мелатонина способствовало положительной динамике показателей МДА в плазме крови. При использовании доз 20 мг/л и 2 мг/л происходило снижение уровня МДА до 2,8 0,02 мкмоль/л и 1,46 0,14 мкмоль/л соответственно ($p < 0,05$).

Выводы. Полученные данные свидетельствуют о достоверной антиоксидантной активности мексидола и мелатонина. Вышеуказанные свойства синтетических антиоксидантов и мелатонина более достоверно проявляются при использовании меньших доз препаратов.

*В.С. Покровский, Н.А. Лесная,
В.И. Романенко, Е.М. Трещалина*

**ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ
ДОКЛИНИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ
ЭФФЕКТИВНОСТИ И ПЕРЕНОСИМОСТИ
КОМБИНАЦИЙ ЭТОПОЗИД + ЦИСПЛАТИН
И ЭТОПОЗИД + ЦИСПЛАТИН + АРАНОЗА
НА МОДЕЛИ КАРЦИНОМЫ ЛЕГКОГО ЛЬЮИС
ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА**

Введение. Комбинация этопозид + цисплатин (EP) является традиционным стандартом лечения мелкоклеточного рака легкого. Ранее было показано, что араноза (Ar) может существенно повышать эффективность многих цитостатиков, в том числе цисплатина. В данной работе изучена возможность включения Ar в схему EP.

Цель исследования. Сравнить эффективность и переносимость комбинаций EP и EPAR.

Материалы и методы. Использованы мыши-самцы BDF₁ с подкожно трансплантированной эпидермоидной карциномой легкого Льюис. В опытные и контрольную (без лечения) группы включали по 10–13 мышей.

Препараты вводили внутривенно одновременно последовательно (интервал 10–15 мин) 1 раз в сутки в течение 3 дней, лечение начинали через 48 ч после трансплантации опухоли. Оптимальные разовые дозы: E – 5 мг/кг, P – 2,5 мг/кг, Ar – 100 мг/кг. Эффективность оценивали по увеличению продолжительности жизни (УПЖ%, минимальный критерий ≥ 25 %) в сравнении с контролем и излечению мышей (отсутствие опухоли в течение 90 дней). О переносимости лечения судили по изменению массы селезенки и возможной гибели мышей от токсичности. Статистическую обработку данных проводили по методу Фишера–Стьюдента в модификации Р.Б. Стрелкова, рассчитывая доверительный интервал средней сравниваемой величины.

Результаты. Комбинация EP в указанных дозах малоэффективна: УПЖ 2 %, излечения не наблюдали. EPAR приводила к излечению 85 % мышей и к достоверному УПЖ оставшихся животных на 67 %. Переносимость сравниваемых комбинаций была удовлетворительной, гибели от токсичности не отмечали.

Однако в группе мышей, получивших EPAR, масса селезенки была достоверно меньше без ухудшения качества жизни.

Показатели лечения	EP (n=10)	EPAr (n=13)
УПЖ	2 %	67 % ($p < 0,05$)
Излечение	0 %	85 %
Средняя масса селезенки, мг	301[234÷368]	136[98÷174]

Заключение. На модели рака легкого LLC включение аранозы в схему полихимиотерапии EP приводит к достоверному улучшению отдаленных результатов лечения. Целесообразно изучение гематологической токсичности комбинации EPAR.

*В.С. Покровский, Н.А. Лесная, В.И. Романенко,
Е.М. Трещалина*

**ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ
ДОКЛИНИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ
ЭФФЕКТИВНОСТИ И ПЕРЕНОСИМОСТИ
КОМБИНАЦИЙ ИРИНОТЕКАН + ЦИСПЛАТИН
И ИРИНОТЕКАН + ЦИСПЛАТИН + АРАНОЗА
НА МОДЕЛИ КАРЦИНОМЫ ЛЕГКОГО ЛЬЮИС
ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА**

Введение. Комбинация иринотекан + цисплатин (IP) является одной из современных схем полихимиотерапии мелкоклеточного рака легкого. Араноза является перспективным комбинантом для включения в схемы полихимиотерапии МРЛ, так как существенно повышает эффективность цисплатина (экспериментальные и клинические данные) и комбинации этопозид + цисплатин (экспериментальные данные). В данной работе изучена возможность включения Ar в схему IP для повышения эффективности лечения.

Цель исследования. Сравнить эффективность и переносимость комбинаций IP и IPAr.

Материалы и методы. Использованы мыши-самцы BDF₁ с подкожно трансплантированной эпидермоидной карциномой легкого Льюис. В опытные и контрольную (без лечения) группы включали по 10–12 мышей. Все препараты вводили внутривенно. I – однократно через 48 ч после трансплантации опухоли (день 1), P и Ar – 1 раз в сутки в дни 1–3, в указанной последовательности с интервалом 10–15 мин, в оптимальных разовых дозах: I – 40 мг/кг (в IPAr 20 мг/кг), P – 2,5 мг/кг, Ar – 100 мг/кг. Эффективность оценивали по увеличению продолжительности жизни (УПЖ%) в сравнении с контролем и излечению мышей (отсутствие опухоли в течение 90 дней).

О переносимости лечения судили по изменению массы селезенки и возможной гибели мышей от токсичности. Статистическую обработку данных проводили по методу Фишера–Стьюдента в модификации Р.Б. Стрелкова, рассчитывая ДИ средней сравниваемой величины.

Результаты. IPAr была значительно более эффективной на LLC, чем IP: излечение мышей – 100 % против 10 %. Переносимость сравниваемых комбинаций была удовлетворительной, гибели от токсичности не отмечали. Средняя масса селезенки в группе мышей, получивших IP или IPAr, составляла 121 и 103 мг соответственно, различия статистически недостоверны.

Показатели лечения	IP (n=10)	IPAr (n=12)
УПЖ, %	48	–
Излечение, %	10	100
Средняя масса селезенки, мг	121 [87÷155]	103 [83÷117]

Заключение. На модели рака легкого LLC включение аранозы в схему полихимиотерапии IP приводит к достоверному улучшению отдаленных результатов лечения. Комбинация IPAr, возможно, является более эффективной, чем этопозид + цисплатин + араноза. Целесообразно детальное изучение гематологической токсичности комбинации IPAr.

Н.С. Рукк¹, А.Ю. Скрябина¹, Г.Н. Апрышко²

**ПОИСК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ
ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ
КОМПЛЕКСНЫХ СОЕДИНЕНИЙ
РЕДКОЗЕМЕЛЬНЫХ МЕТАЛЛОВ**

¹МИТХТ им. М.В. Ломоносова, Москва

²ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Задачи исследования. Разработать подходы к получению высокоэффективных противоопухолевых веществ из класса комплексных соединений редкоземельных металлов.

Материалы и методы. Использован метод компьютерного прогнозирования спектра биологической

активности химических веществ по их структуре с помощью системы PASS с целью применения веществ с наибольшей прогнозируемой противоопухолевой активностью в качестве лигандов для синтеза комплексов производных соединений лантаноидов.

Результаты. Литературные сведения о повышении биологической активности органических веществ при их включении в качестве лигандов в комплексные соединения, а также полученные ранее предварительные данные о наличии противоопухолевой активности при испытании на животных с экспериментальными опухолями синтезированных нами антипириновых производных иодилов лантаноидов послужили основанием для исследований по получению высокоэффективных противоопухолевых веществ из класса комплексных соединений редкоземельных металлов с органическими лигандами. Для выбора оптимальных лигандов проведено компьютерное прогнозирование спектра биологической активности 47 низкомолекулярных веществ (включая применяемый как лекарство антипирин). Для ряда веществ получен значимый прогноз антинеопластической активности с цитотоксическим или иммуномодулирующим механизмами действия. Для некоторых производных пиразолона предсказана достаточно высокая вероятность (P_a) проявления антиметастатической активности (например, соответствующие P_a для 1-(4-хлорфенил)-3-метил-2-пиразолин-5-она и 3-метил-1-фенил-2-пиразолин-5-она равны 0,554 и 0,594) и наличия ряда биохимических механизмов этой активности. В настоящее время проводится отработка методов синтеза комплексных производных иодилов лантаноидов с лигандами, отобранными по результатам компьютерного прогнозирования. Некоторые комплексные соединения иодилов лантаноидов с антипирином переданы на изучение цитотоксической активности в Национальный институт рака США. Синтезированные вещества предлагаются для изучения противоопухолевой и антиметастатической активности на животных.

Выводы. Предложена методика оптимизации поиска активных противоопухолевых комплексных соединений лантаноидов с органическими лигандами на основе компьютерного прогнозирования биологической активности предполагаемых лигандов.

*Н.А. Сахарнов¹, Д.В. Новиков¹, О.В. Уткин¹,
А.В. Куролес¹, Е.Ю. Конторщикова²,
К.А. Коровушкина², В.В. Новиков¹*

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ МРНК FAS-АНТИГЕНА В КЛЕТКАХ ОПУХОЛЕВЫХ ОЧАГОВ МИОМЫ И РАКА ТЕЛА МАТКИ

¹НИИ МБРЭ ННГУ имени Н.И. Лобачевского, Н. Новгород
²ГОУ ВПО НИЖГМА РОСЗДРАВА, НИЖНИЙ НОВГОРОД

Введение. Опосредующий апоптоз Fas-антиген участвует в передаче апоптотического сигнала в клетку-мишень при связывании со специфическим лигандом. Помимо мембранной описаны растворимые формы мРНК Fas-антигена, образующиеся в результате альтернативного сплайсинга.

Цели и задачи. Характеристика спектра форм мРНК Fas-антигена, кодирующих растворимые белки, в опухолевых клетках миомы и рака тела матки.

Материалы и методы. Материалом исследования служили образцы клеток 14 больных миомой тела матки и 7 больных раком тела матки. Сравнительный анализ спектра форм мРНК Fas-антигена в клетках опухолей проводили с помощью метода ОТ-ПЦР.

Результаты. Установлено, что в клетках опухолевых очагов мРНК мембранной формы Fas-антигена детектировалась в 5 случаях из 14 (35 %) при миоме и в 4 случаях из 7 (57 %) при раке тела матки. Матрич-

ная РНК доминирующей растворимой формы выявлялась в 2 случаях из 14 (14 %) при миоме и в 1 из 7 (14 %) при раке тела матки. При этом альтернативная форма мРНК Fas-антигена с делециями 3 и 4 экзона обнаруживалась в 5 из 14 (35 %) случаев при миоме и в 4 из 7 (57 %) при раке тела матки. Альтернативная форма мРНК Fas-антигена с делециями 4 экзона детектировалась в 2 случаях из 14 (14 %) при миоме и в 2 из 7 (28 %) при раке тела матки. Минорная форма мРНК Fas-антигена с делециями 4 и 6 экзона была выявлена в 1 случае из 14 (7 %) при миоме и в 2 из 7 (28 %) при раке тела матки.

Выводы. Отсутствие экспрессии мРНК мембранной формы Fas-антигена в ряде образцов, вероятно, является защитным механизмом, позволяющим опухолевым клоном уходить от Fas-зависимого апоптоза. Дополнительным механизмом снижения чувствительности опухолевых клеток к апоптотическим сигналам может служить увеличение частоты образования альтернативных форм мРНК Fas-антигена, кодирующих растворимые белковые продукты.

*Ю.С. Сидоренко, Е.М. Франциянц, Е.Ф. Комарова,
Л.Д. Ткаля, Н.Д. Черярина, Ю.А. Погорелова,
Г.З. Сергостьянц*

ГИДРОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ САРКОМЫ С-45, РАСТУЩЕЙ В ТКАНИ ЛЕГКОГО, ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

ФГУ РОСТОВСКИЙ НИОИ, РОСТОВ-НА-ДОНУ

Изучена активность катепсина D, антириптическая, кислото-стабильных ингибиторов, щелочной и кислой фосфатаз, коэффициентов соотношения КФ/ЩФ, кат. Д/АТА, кат. Д/КСИ в образцах тканей С-45, растущей в ткани легкого крыс без химиотерапевтического воздействия и после проведения различных видов химиотерапии. В исследовании было использовано 56 животных с саркомой С-45, перевитой в ткань легкого. Все крысы были разделены на 3 группы: 1 – рост опухоли без каких-либо воздействий (контрольная); 2 – через 25 дней от момента перевивки С-45 в ткань легкого животным внутривенно вводили циклофосфан, разведенный физиологическим раствором, в дозе 40 мг; 3 – через 25 дней от момента перевивки С-45 в ткань легкого животным внутривенно вводили циклофосфан, преинкубированный 30 мин при 37 °С с кровью из пораженного опухоли легкого, в дозе 40 мг.

Установлено, что активность кат. D снижалась по сравнению с показателями контрольной группы: во 2 группе крыс на 24,1 %, в 3 – на 56 %. При этом активность КСИ после в/в введения химиопрепарата на физиологическом растворе достоверно не изменялась, а после химиотерапии на крови из органа, пораженного опухолью, достоверно увеличивалась на 46,1 %. Коэффициенты соотношения кат. Д/КСИ снижались на 33,3 % в образцах опухоли 2-й группы животных и в 2,3 раза – в образцах ткани опухоли 3-й группы крыс. Активность КФ и ЩФ в образцах ткани опухоли после традиционной экспериментальной химиотерапии не имела достоверного изменения по сравнению с показателями у крыс без химиотерапии. После АГХТ на органоспецифической крови активность фосфатаз имела разнонаправленный характер: КФ – снижалась на 77,4 %, а ЩФ, напротив, повышалась на 29,7 %.

При этом коэффициенты соотношения КФ/ЩФ, характеризующие взаимоотношения цитозольного и мембранного компонентов системы фосфорилирования, после проведения АГХТ снизились по сравнению с традиционными показателями без химиотерапевтического воздействия в 1,7 раза.

Выводы. Обнаруженное нами изменение активности системы протеиназа-ингибитор в ткани С-45 после введения химиопрепарата на крови из пораженного опухолью легкого может указывать на качественные перестройки обмена, лежащие в основе трансформации и дифференцировки клеток опухоли, процессов морфогенеза, координации межклеточных взаимодействий, присущих опухолевой ткани.

Ю.С. Сидоренко, Е.М. Франциянц, Е.Ф. Комарова, Л.Д. Ткаля, Н.Д. Черярина, Ю.А. Погорелова, Г.З. Сергостьянц

ГИДРОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПЕРИФОКАЛЬНОЙ ЗОНЫ САРКОМЫ С-45, РАСТУЩЕЙ В ТКАНИ ЛЕГКОГО, ПОСЛЕ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ.
ФГУ РОСТОВСКИЙ НИОИ, РОСТОВ-НА-ДОНУ

Изучена активность гидролитических процессов в перифокальной зоне опухоли без химиотерапевтического воздействия и после проведения экспериментальной химиотерапии.

В исследовании было использовано 56 белых беспородных самцов крыс с саркомой С-45, перевитой в интактные ткани легкого.

Все крысы были разделены на 3 группы:

1 – рост опухоли без химиотерапевтического воздействия (контрольная);

2 – через 25 дней от момента перевивки С-45 в ткань легкого животным внутривенно вводили циклофосфан, разведенный физиологическим раствором, в дозе 40 мг;

3 – через 25 дней от момента перевивки С-45 в ткань легкого внутривенно вводили циклофосфан, преинкубированный 30 мин при 37 °С с кровью из пораженного опухолью легкого, в дозе 40 мг.

Установлено, что без терапии активность протеолиза в ткани перифокальной зоны опухоли была повышена, о чем свидетельствовало увеличение показателя соотношения в системе протеаза-ингибитор.

Это сопровождалось и значительным усилением энергетических процессов, причем, преобладал гипоксический тип фосфорилирования.

После стандартной внутривенной экспериментальной химиотерапии в активности гидролитических процессов перифокальной зоны опухоли не отмечено сколько-нибудь значимых изменений, кроме снижения на 25 % показателя коэффициента соотношения катепсинД/КСИ (кислото-стабильные ингибиторы), произошедшего за счет увеличения на 53,8 % уровня активности КСИ.

После проведения экспериментальной химиотерапии препаратом, преинкубированным с кровью из легкого, пораженного злокачественной опухолью, активность кат. Д в перифокальной зоне опухоли достоверно не отличалась от аналогичного показателя в интактной ткани легкого. Активность КСИ возросла в 2,4 раза по отношению к показателю до противоопухолевого воздействия и стала лишь на 23,1 % меньше, чем в интактной ткани легкого.

Активность обеих фосфатаз перераспределилась по сравнению с показателями без воздействия в сторону активации щелочной фосфатазы, активность которой возросла в 2,1 раза.

Коэффициент соотношения КФ/ЩФ снизился по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе в 2,7 раза и стал лишь в 2 раза выше, чем в интактной ткани легкого.

Разработанная нами аутогеомохиотерапия с использованием крови из пораженного опухолью органа снижает инвазивный, пролиферативный потенциал ткани злокачественной опухоли, регулируя гидролитические процессы не только в самой опухоли, но и в окружающей ее ткани.

Ю.С. Сидоренко, Е.М. Франциянц, Е.Ф. Комарова, Л.Д. Ткаля, Н.Д. Черярина, Ю.А. Погорелова, Г.З. Сергостьянц

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ХИМИОТЕРАПИЯ ЛИМФОСАРКОМЫ ПЛИССА ЛЕГКОГО
ФГУ РОСТОВСКИЙ НИОИ, РОСТОВ-НА-ДОНУ

Для изучения эффективности различных способов введения циклофосфана мы провели экспериментальную химиотерапию лимфосаркомы Плисса в легком, представляющую собой опухоль железистого строения практически не чувствительную к химиотерапии.

Было использовано 45 крыс массой 160–180 г, у которых лимфосаркому Плисса получали в ткани легкого путем введения в стерильных условиях взвеси опухолевых клеток в подключичную вену.

Все животные были разделены на 3 группы. В контрольной группе рост опухоли был без каких-либо воздействий. Двум группам животных через 1 ч от момента перевивки лимфосаркомы Плисса внутривенно вводили циклофосфан в дозе 120 мг, причем в одном случае циклофосфан традиционно разводили физиологическим раствором, а в другом — преинкубировали 30 мин при 37 °С с аутокровью, взятой из подключичной вены.

Показано, что экспериментальная химиотерапия циклофосфаном, введенном внутривенно на физиологическом растворе, не оказывала влияния на лимфосаркому Плисса, растущую в легком. При внутривенном введении циклофосфана, преинкубированного с аутокровью животного, продолжительность жизни увеличивалась практически в 2,5 раза по сравнению с группой контрольных крыс и после введения циклофосфана в традиционном варианте.

Это свидетельствует о том, что инкубация химиопрепарата с аутокровью приводит, по-видимому, к появлению новых активных метаболитов с другой фармакодинамикой и, следовательно, к модификации его действия и частичному преодолению резистентности опухоли к циклофосфану.

Поскольку побочным токсическим действием химиопрепаратов является повреждение внутренних органов, мы изучили морфологические изменения, возникающих в тимусе, селезенке, печени.

В результате гистологического исследования показано, что введение циклофосфана, преинкубированного с аутокровью, не вызывает таких серьезных токсических повреждений тимуса и селезенки (органов иммунитета) и печени (основного органа, осуществляющего регуляцию гомеостаза организма и его дезинтоксикацию) как в группе с другим способом введения химиопрепарата.

Ю.С. Сидоренко, Е.М. Франциянц, Е.Ф. Комарова, Л.Д. Ткаля, Н.Д. Черярина, Ю.А. Погорелова, Г.З. Сергостьянц

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ХИМИОТЕРАПИЯ САРКОМЫ С-45, РАСТУЩЕЙ В ТКАНИ ЛЕГКОГО
ФГУ РОСТОВСКИЙ НИОИ, РОСТОВ-НА-ДОНУ

Целью исследования явилась разработка экспериментальной хирургической химиотерапии, основанной на инкубации цитостатиков с кровью из зоны злокачественного роста. В настоящей серии исследования было использовано 60 белых беспородных самцов крыс с саркомой С-45, перевитой в ткань легкого. Все животные были разделены на 3 группы: 1 – рост опухоли без каких-либо воздействий (контрольная); 2 – через 25 дней от момента перевивки С-45 в ткань легкого животным внутривенно вводили циклофосфан, разведенный физиологическим раствором, в дозе 40 мг; 3 – через 25 дней от момента перевивки С-45 в ткань легкого животным внутривенно

вводили циклофосфан, преинкубированный 30 мин при 37 °С с кровью из пораженного опухолью легкого, в дозе 40 мг. Кровь для экспериментальной химиотерапии получали от 15 крыс с С-45, перевитой в ткань легкого в те же сроки, что и в исследованных группах.

Традиционная химиотерапия приводила к достоверному увеличению продолжительности жизни животных 2-й группы на 26,4 % по сравнению с 1-й. Проведение химиотерапии на крови, полученной из органа (легкого), пораженного С-45, увеличивало продолжительность жизни 70 % животных 3-й группы в 2,2 раза по сравнению с показателем в контрольной группе и в 1,4 раза по сравнению с показателем во 2-й группе животных. Необходимо отметить, что 30 % крыс этой группы пережили указанный срок и были забиты по истечению 150 суток от момента перевивки опухоли в ткань легкого. При морфологическом исследовании опухоли в 3-й группе отмечено выраженное очаговое фибрирование в центре и по периферии опухоли, отсутствие патологических митозов и очагов некрозов. В перифокальной зоне опухоли не обнаружено очагов некроза и инфильтрации сегментоядерными лейкоцитами, кровоизлияний. Ткань мало отличалась от нормальной легочной ткани. Не найдено метастатических отсеков. В дальнейшие сроки исследования, вплоть до гибели, в ткани опухоли животных 3-й группы увеличивался очаговый фиброз. Опухоль крыс 2-й группы состояла из веретенообразных клеток с мелкими участками некрозов, незначительным полиморфизмом с небольшим количеством сегментоядерных лейкоцитов. В перифокальной зоне опухоли была отечная жидкость в просвете альвеол, мелкие кровоизлияния, однако, в отличие от аналогичной ткани в контрольной группе, почти отсутствовали сегментоядерные лейкоциты. Изредка встречались одиночные мелкой величины метастатические отсеки без лимфо-плазмочитарной инфильтрации вокруг.

Ю.С. Сидоренко, Е.М. Франциянц, Е.Ф. Комарова, Л.Д. Ткаля, Н.Д. Черярина, Ю.А. Погорелова, Г.З. Сергостьянц

СОСТОЯНИЕ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ САРКОМЫ С-45, РАСТУЩЕЙ В ТКАНИ ЛЕГКОГО, ПОСЛЕ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ ФГУ РОСТОВСКИЙ НИОИ, РОСТОВ-НА-ДОНУ

Была изучена активность супероксиддисмутазы, каталазы, суммарной пероксидазной активности, уровень содержания диеновых конъюгатов, малонового диальдегида, витаминов Е и А саркомы С-45, перевитой в ткань легкого самцов белых беспородных крыс массой 200-220 г без химиотерапевтического воздействия и после проведения различных видов химиотерапии.

После внутривенного введения циклофосфана, растворенного в физиологическом растворе, активность СОД возросла по сравнению с показателем в группе крыс без экспериментальной терапии на 44,1 % за счет активности Mn-SOD, которая увеличилась на 57,2 % без достоверного изменения активности Cu-Zn – СОД. Активность каталазы при этом увеличилась в 1,7 раза, СПА – в 4 раза. Содержание витамина Е снизилось в 2 раза, а витамина А осталось без изменений. Не обнаружено достоверных различий в содержании первичных и конечных продуктов ПОЛ – ДК и МДА.

После экспериментальной химиотерапии, проведенной циклофосфаном, преинкубированным с кровью из пораженного опухолью легкого, общая активность СОД возрастала по сравнению с фоновыми величинами на 92,5 %. При этом в 3,1 раза возрастала активность Cu-Zn-зависимого изофермента, а активность Mn-SOD

увеличилась в 1,6 раза. Активность каталазы в ткани опухоли возросла по сравнению с фоновыми показателями в 2,1 раза, СПА – в 1,5 раза. Изменения уровня витаминов А и Е было таким же, как и в предыдущей группе. Значительные изменения отмечены в содержании продуктов ПОЛ в этой группе: уровень ДК возрос по сравнению с показателями без химиотерапевтического воздействия в 1,5 раза, МДА – в 2 раза.

В целом можно говорить, что предложенная нами экспериментальная химиотерапия вызвала в злокачественных опухолях, растущих в ткани легкого, универсальную реакцию активации свободнорадикального окисления, способную нарушить целостность пероксисом. Поскольку основные антиоксиданты наружной клеточной мембраны – жирорастворимые витамины А и Е также претерпевали изменения, можно думать, что активация ПОЛ в исследуемых опухолях происходила и внутри клеток и способствовала разрыве цитоплазматических и митохондриальных мембран, что, в свою очередь, является адекватным показателем повреждающего действия химиопрепаратов, модифицированных органоспецифической кровью.

Ю.С. Сидоренко, Е.М. Франциянц, Е.Ф. Комарова, Л.Д. Ткаля, Н.Д. Черярина, Ю.А. Погорелова, Г.З. Сергостьянц

СОСТОЯНИЕ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ ПЕРИФОКАЛЬНОЙ ЗОНЫ САРКОМЫ С-45, РАСТУЩЕЙ В ТКАНИ ЛЕГКОГО, ПОСЛЕ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ ФГУ РОСТОВСКИЙ НИОИ, РОСТОВ-НА-ДОНУ

Основываясь на принципе тканевой теории злокачественного роста, согласно которой рак есть результат нарушения механизма тканевого контроля пролиферации как надклеточной системы, мы сочли целесообразным изучить состояние свободнорадикальных процессов в перифокальной зоне саркомы С-45, растущей эктопически в ткани легкого белых беспородных самцов крыс, в процессе традиционного и предлагаемого нами способа экспериментальной химиотерапии, а также без воздействия химиопрепаратами.

В целом в группе без экспериментальной терапии в перифокальной зоне саркомы С-45 отмечено нарушение соотношения в системе ПОЛ-антиоксиданты практически такое же, как и в ткани самой злокачественной опухоли. Это, вероятно, и создавало условия для роста и развития опухолевых метастатических отсеков, найденных при морфологическом исследовании ткани перифокальной зоны.

После стандартной внутривенной экспериментальной химиотерапии саркомы в перифокальной зоне опухоли изменения коснулись лишь активности СОД. Найдено падение в 4,4 раза общей активности фермента относительно группы крыс без терапии. Причем эта активность была полностью представлена Cu-Zn-зависимой формой, тогда как активность Mn-зависимого изофермента СОД не определялась.

Все остальные исследуемые показатели достоверно не отличались от значений у животных без экспериментальной терапии.

После проведения внутривенной экспериментальной химиотерапии циклофосфаном, преинкубированным с кровью из пораженного опухолью легкого, произошли серьезные перестройки в свободнорадикальных процессах перифокальной зоны опухоли. Так, уровень содержания продуктов ПОЛ – ДК и МДА – возрос по сравнению с показателями у крыс без терапии в 2 и 3,3 раза соответственно, и показатели достоверно не отличались от таковых в интактной ткани легкого.

Возросла и достоверно не отличалась от показателей в интактной ткани легкого активность Cu-Zn-зависимого и Mn-зависимого изоферментов СОД. СПА в перифокальной зоне опухоли снизилась в 2,1 раза и стала превосходить показатель в интактной ткани легкого лишь на 22 %. Не обнаружено по сравнению с показателями в группе без терапии изменения уровня содержания витаминов Е, а также активности каталазы. Вместе с тем отмечено возрастание в 3 раза содержания витамина А.

Т.А. Сидорова, Г.К. Герасимова

СИСТЕМА ГЕМ-ГЕМОКСИГЕНАЗА I ТИПА / ФЕРРИТИН (ГО-1/Ф) В ЗАЩИТЕ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ОТ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА, ИНДУЦИРОВАННОГО ХИМИОПРЕПАРАТАМИ
ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Введение. Система ГО-1/Ф является ключевой в физиологическом катаболизме гема и поддержании гомеостаза железа в клетке. При действии ряда факторов (радио-, химио- и фотодинамической терапии) в опухолевой клетке образуются свободные радикалы кислорода (ROS), которые вызывают повреждение гемопroteинов и появление свободного гема.

Для защиты от избытка «гемового» железа в клетке индуцируется система ГО-1/Ф. Остается не ясным вопрос, влияет ли уровень базальной и индуцированной активности этой системы на эффективность противоопухолевых препаратов, механизм действия связан с генерацией в клетке ROS.

К таким препаратам относятся антрациклиновые антибиотики, митоксантрон и каталитическая система тарафтал + аскорбиновая кислота (ТФ+АК).

Задачи исследования. Найти линию опухолевых клеток человека с базальной активностью ГО-1/Ф, исследовать влияние препаратов на ГО-1/Ф и выяснить ее роль в механизме защиты клеток от цитотоксичности химиопрепаратов.

Материалы и методы. В работе использовались культуры опухолевых клеток линий K562, U937 и KG1. Базальный и препарат-индуцированный уровень мРНК ГО-1 и Ф изучали методом ПЦР с обратной транскрипцией, экспрессию белков оценивали методом Вестерн-блотта. Цитотоксичность препаратов оценивали МТТ-методом.

Результаты. Исследования базального и индуцированного гемом уровнем экспрессии ГО-1 и Ф (мРНК и белка) показали, что в клетках линий U937 и KG-1 ГО-1/Ф система является базально активной, а в клетках линии K562 она ингибирована на уровне транскрипции.

В клетках U937 базальный уровень экспрессии ГО-1 увеличивается в присутствии ТФ+АК и H₂O₂ и не меняется в присутствии антрациклинов и митоксантрона. Выживаемость клеток U937 после индукции ГО-1/Ф гемом увеличивалась в присутствии ТФ+АК и H₂O₂, не изменялась в присутствии антрациклинов и митоксантрона. Угнетение цинк-прото-порфирином базальной и индуцированной гемом активности ГО-1 — фермента в клетках U937 не повлияло на цитотоксичность ТФ+АК и H₂O₂.

Выводы

1) В клетках U937 с базально активной ГО-1/Ф системой ТФ+АК и H₂O₂ оказались индукторами экспрессии мРНК ГО-1 и ГО-1-белка и не влияли на базальный уровень экспрессии мРНК Ф и Ф-белка.

2) Уровни экспрессии мРНК ГО-1 и ГО-1-белка в клетках U937 не изменяются в присутствии доксорубина, акларубина, митоксантрона.

3) Индукция ГО-1/Ф в клетках U937 гемом за-

щищает их от токсичности ТФ+АК и H₂O₂ и не влияет на цитотоксичность доксорубина и митоксантрона.

4) Ингибирование активности ГО-1-фермента в клетках U-937 не повышает их чувствительности к ТФ+АК и H₂O₂.

Работа выполнена в рамках НТП «Разработка и внедрение в медицинскую практику новых методов и средств диагностики и лечения злокачественных опухолей и других заболеваний».

А.П. Смирнова, Л.П. Сушинина, С.В. Устинкина, З.С. Шпрах, А.П. Будько, Л.И. Смирнова, Н.П. Яворская, И.С. Голубева, Е.И. Михеевич, З.С. Смирнова

СИНТЕЗ И ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ЦИФЕТРЕЛИНА ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ
ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Введение. Современные представления о значении гормонов гипоталамуса в развитии гормонозависимых опухолей послужили основанием для поиска принципиально новых противоопухолевых веществ среди аналогов соматостатина. Механизм их противоопухолевого действия основан на ингибировании секреции ряда белковых и стероидных гормонов, участвующих в пролиферации опухолевых клеток. Этот механизм реализуется через специфические рецепторы, высокая экспрессия которых широко представлена на клетках ряда злокачественных опухолей. Цифетрелин — один из синтезированных аналогов соматостатина, отобран в эксперименте для продвижения на клинические испытания и находится в настоящее время на стадии разработки лекформы.

Цель исследования. Синтез и изучение противоопухолевой активности цифетрелина на перевиваемых опухолях мышей с целью создания лекарственной формы для перорального введения в виде таблеток.

Материалы и методы. Синтез проводили классическими методами пептидной химии. Хроматографическую очистку субстанции проводили на колонках с силикагелем. ВЭЖХ выполняли на жидкостном хроматографе НР 1050 фирмы «Хьюлетт-Паккард» США. Противоопухолевую активность оценивали на перевиваемых моделях опухолей мышей: аденокарциноме молочной железы Ca-755, раке шейки матки, РШМ-5 и эпидермоидной карциноме легкого Льюис LLC по стандартной методике. Лечение начинали через 48 часов после перевивки опухоли. Критериями эффективности служили торможение роста опухоли (ТРО, %) и увеличение продолжительности жизни (УПЖ, %).

Результаты. Оптимизирован метод синтеза цифетрелина, с помощью которого разработано несколько серий субстанции. Разработаны методики определения качества субстанции с целью дальнейшего создания проекта ФСП. Прототип лекарственной формы изучен на перевиваемых опухолях мышей при пероральном введении в широком диапазоне доз от 50 до 140 мг/кг. Установлена терапевтическая доза 120 мг/кг. На трех перевиваемых опухолях LLC, РШМ-5 и Ca-755 показан противоопухолевый эффект равный 65–86 % ТРО после ежедневного введения терапевтической дозы цифетрелина в течение 5 дней. На LLC и РШМ-5 терапевтический эффект сохраняется в течение 30 дней. На Ca-755, кроме высокого противоопухолевого эффекта непосредственно после лечения 86 % ТРО и на 9 день 76 % ТРО, выявлено УПЖ, равное 53 %.

Выводы. Полученные результаты позволяют сделать заключение о возможности создания лекарственной формы цифетрелина в виде таблеток для перорального применения.

З.С. Смирнова, Л.М. Борисова, М.П. Киселева,
Т.Д. Миникер, И.Л. Плихтык, Л.В. Эктова, С.Я. Мельник
**ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ
СОЕДИНЕНИЙ В РЯДУ
N-ГЛИКОЗИЛИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ
ИНДОЛО[2,3-А]КАРБАЗОЛА**

ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Введение. В настоящее время одно из направлений повышения эффективности химиотерапии идет по пути включения в схему лечения мишень-направленных противоопухолевых препаратов. Мишенями для индолокарбазолов являются топоизомеразы, ДНК и киназы. Особенностью механизма действия отдельных соединений является их способность взаимодействовать с несколькими мишенями и, следовательно, индуцировать разные пути клеточной гибели. Выявленная ранее высокая противоопухолевая активность у двух производных индоло[2,3-а]карбазолов послужила основанием для продолжения исследований в этом ряду соединений как для проведения структурно-функционального анализа, так и с целью отбора наиболее активного из них для передачи на клинические испытания.

Материалы и методы. Противоопухолевую активность трех соединений изучали на перевиваемых опухолях мышей: лимфолейкозе Р-388 и эпидермоидной карциноме легкого Льюис LLC. В опытах использовали мышей-гибридов ВДФ₁. Критериями эффективности служили: торможение роста опухоли (ТРО, %) и увеличение продолжительности жизни опытных животных по сравнению с контрольными (УПЖ, %). Соединение растворяли в 10% растворе ДМСО и вводили внутривентриально, в течение 5 дней в широком диапазоне доз от 10 мг/кг до 100 мг/кг.

Результаты. Соединения ЛХС-1098 и ЛХС-1040 имеют одинаковую гетероциклическую часть, но различаются углеводными остатками. Изменение структуры углеводного остатка привело к тому, что практически равный терапевтический эффект достигается при применении этих соединений в разных терапевтических дозах. Так, на Р-388 УПЖ=39 % достигается при введении этих соединений в дозах 10 мг/кг и 25 мг/кг соответственно, а на LLC ТРО=67 % наблюдается при введении ЛХС-1098 в дозе 25 мг/кг и ТРО=59 % при введении ЛХС-1040 в дозе 50 мг/кг. Соединение ЛХС-976 оказывает терапевтический эффект на Р-388 равный 47 % УПЖ в дозе 50 мг/кг, а на LLC – 68 % ТРО в дозе 10 мг/кг.

Заключение. Три вновь изученных соединения обладают меньшей терапевтической эффективностью на Р-388 и LLC по сравнению с изученными ранее ЛХС-999 и ЛХС-1006 на этих же моделях опухолей. В то же время подтверждены полученные данные, что изменение структуры углеводного фрагмента у производных индоло[2,3-а]карбазолов приводит к равному противоопухолевому эффекту соединений, но в разных терапевтических дозах.

З.С. Смирнова¹, Л.М. Борисова¹, М.П. Киселева¹,
И.Ю. Кубасова², Г.К. Герасимова¹, Н.А. Санина²,
С.М. Алдошин²

**ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ
НАТРИЕВОЙ СОЛИ ТЕТРАНИТРОЗИЛЬНОГО
СУЛЬФИДНОГО КОМПЛЕКСА ЖЕЛЕЗА**

¹ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

²ИПХФ РАН, Черноголовка

Введение. В отличие от известных органических NO-доноров (органических нитратов, диазониумдиолатов, нитрозотиолов и др.), которые применяются только для повышения эффективности известных химиотерапевтических средств, нитрозильные [2Fe-2S]

комплексы железа проявляют противоопухолевую активность при монотерапии. Однако применение нитрозильных [2Fe-2S] комплексов железа в клинике ограничено их низкой растворимостью. Таким образом, создание растворимых и биодоступных лекарственных средств этого класса, обладающих высокой противоопухолевой активностью и низкой токсичностью, остается актуальной задачей.

Цель работы. Оценить противоопухолевую активность натриевой соли водорастворимого тетранитрозильного сульфидного комплекса железа (RSR-Na).

Материалы и методы. В опытах использовали мышей гибридов ВДФ₁, массой 18–20 г. Противоопухолевую активность соединения изучали на перевиваемых опухолях мышей: эпидермоидной карциноме легкого Льюис и меланоме В-16, аденокарциноме молочной железы Ca-755, лимфолейкозе Р-388. Критериями эффективности служили: торможение роста опухоли (ТРО, %) и увеличение продолжительности жизни опытных животных по сравнению с контрольными (УПЖ, %). Соединение растворяли в воде и вводили внутривентриально, в течение 5 дней в широком диапазоне доз — от 10 мг/кг до 100 мг/кг.

Результаты. Показано, что соединение RSR-Na на Ca-755 проявляет статистически значимый, но кратковременный противоопухолевый эффект в дозах 10 и 50 мг/кг (ТРО=70 % и 60 % соответственно). На меланоме В-16 выявлено длительное противоопухолевое действие в дозах 10; 25; 50 и 75 мг/кг (ТРО=62–74 % ТРО), а также УПЖ = 50; 42; 26 и 28 % соответственно. Длительный (в течение 20 дней) терапевтический эффект соединения оказывает и в отношении LLC в дозе 25 мг/кг 83 – 60% ТРО и УПЖ = 27 %. В то же время выявлен слабый противоопухолевый эффект на Р-388 – максимальное УПЖ=17 %.

Заключение. Полученные экспериментальные данные по противоопухолевой активности натриевой соли тетранитрозильного сульфидного комплекса железа – RSR-Na дают основание продолжить изучение терапевтической эффективности в ряду нового поколения доноров NO с целью создания нового высокоэффективного противоопухолевого препарата.

З.А. Соколова¹, Т.П. Рябых¹, Т.В. Осипова¹,
В.И. Карасева¹, В.Б. Матвеев¹, М.И. Модорский²,
А.Ю. Барышников¹

**РАЗРАБОТКА ДИАГНОСТИЧЕСКИХ СИСТЕМ
ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ НА ОСНОВЕ ТЕХНОЛОГИИ
БИОЛОГИЧЕСКИХ МИКРОЧИПОВ**

¹ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

²ГКБ №60, Москва

Задачи исследования. Технология биочипов как одна из нанотехнологий открывает новые возможности в области диагностики опухолевых заболеваний. Биологические микрочипы являются экономичной, эффективной альтернативой традиционным диагностическим системам на опухолевые маркеры, позволяющие проводить одновременное количественное определение в одном образце нескольких опухолевых маркеров. Простат-специфический антиген является наиболее эффективным и часто используемым маркером в ранней диагностике РПЖ. Одновременное определение двух форм ПСА-общей и свободной (ПСАобщ и ПСАсв) в сыворотке крови значительно повышает специфичность ПСА-теста. Целью исследования была оценка диагностической эффективности тест-системы в формате микрочипа для одновременного количественного определения двух форм ПСА (общей и свободной) с помощью ROC-анализа и сравнение с эффективностью традиционной иммуноферментной системы (CanAg).

Материалы и методы. Микрочипы на основе гидрогелей с иммобилизованными моноклональными антителами к двум формам ПСА были предоставлены ИМБ им. В.А. Энгельгардта РАН. Уровень ПСАобщ и ПСАсв определяли в сэндвич иммуноанализе. Общее число образцов сыворотки крови мужчин, включенных в исследование, составило 223, из них было 28 здоровых донора, 54 больных с разными формами урогенитального рака, 54 – с доброкачественной гиперплазией предстательной железы и 87 – с подтвержденным диагнозом РПЖ. Были сформированы три группы сравнения: РПЖ и здоровые доноры, РПЖ и разные формы урогенитального рака, РПЖ и ДГПЖ. ROC – анализ в группах сравнения проводили с помощью компьютерной программы MedCalc.

Результаты. Регрессионный анализ показал высокую степень корреляции ($r=0,96$; $p<0,0001$) данных определения двух форм ПСА (общего и свободного) в тест-системе в формате микрочипа и иммуноферментной системе (CanAg). Результаты измерений ПСА были проанализированы с помощью ROC-кривых и показателя площади под ROC-кривой. Показано что, площади под ROC-кривыми для двух тест-систем в группах сравнения достоверно не различаются ($p>0,05$) и диагностическая эффективность новой системы сопоставима с эффективностью традиционной и хорошо зарекомендовавшей себя иммуноферментной тест-системы (CanAg).

Выводы. Новая тест-система в формате микрочипа, позволяющая проводить одновременное количественное определение двух форм ПСА, не уступает по диагностической эффективности иммуноферментной системе (CanAg) и может быть использована для своевременной диагностики РПЖ в группах высокого риска (мужчины старше 50 лет).

К.В. Смирнова, С.В. Дидук, В.Э. Гурцевич
**ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ
 ВАРИАНТОВ ГЕНА LMP1
 ВИРУСА ЭПШТЕЙНА-БАРР У БОЛЬНЫХ
 ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ
 ЗАБОЛЕВАНИЯМИ В РОССИИ**
 ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Введение. Особый интерес среди современных исследований различных онкогенных вирусов представляет вирус Эпштейна-Барр, который является убиквитарным герпесвирусом. С этим вирусом ассоциирован широкий спектр доброкачественных (инфекционный мононуклеоз, ИМ, и волосатоклеточная лейкоплакия полости рта) и злокачественных заболеваний (лимфома Беркитта, рак носоглотки, лимфома Ходжкина, неходжкинские лимфомы). Исследования последних лет свидетельствуют о том, что один из белков латентной инфекции ВЭБ, онкобелок LMP1 (латентный мембранный белок 1), кодируемый одноименным геном (LMP1), играет чрезвычайно важную роль в патогенезе ряда ВЭБ-ассоциированных заболеваний.

Учитывая полное отсутствие информации о штаммовых различиях вариантов LMP1 ВЭБ, персистирующих в России, цель исследования заключалась в филогенетическом анализе его вариантов, амплифицированных от российских больных ВЭБ-ассоциированными злокачественными и доброкачественными (ИМ) заболеваниями, а также здоровых лиц.

Материалы и методы. Опухолевый биопсийный материал, а также образцы крови и слюны (частично) от одних и тех же больных ЛХ и НХЛ; а также образцы крови от больных ИМ и доноров крови. Из собранного клинического материала выделяли ДНК, проводили амплификацию и секвенирование фрагментов гена LMP1 ВЭБ. Для определения филогенетического родства вариантов LMP1 использовался пакет программ CLUSTAL W, Vector NTI, TreeView.

Результаты. Среди изученных нами образцов мы выявили представителей таких охарактеризованных Edwards и др. штаммов ВЭБ (Edwards et al, 1999, 2004) как China 1 (Ch1), Mediterranean плюс (Med+), Mediterranean минус (Med-), North Carolina (NC), а также представителей группы B95-8b/A – штамм, предложенный группой Sandvej (Sandvej et al., 1997). Наибольшее же число проанализированных из этой группы образцов LMP1 было охарактеризовано как генотип B95-8b/A, для которого характерен низкий уровень дивергенции (3–4 критические замены ак.), отсутствие Сао-подобной делеции 30 п.н., а также наличие «молчащей» замены Т на С в 356 кодоне, что соответствует 168253 положению генома ВЭБ.

Выводы. Проведенные исследования показали, что российские образцы LMP1 по уровню дивергентности относятся к различным вариантам LMP1 зарубежного происхождения, но обладают рядом уникальных мутационных особенностей. Полученные данные открывают широкую перспективу для сравнительного изучения биологических свойств LMP1 российского происхождения, что может способствовать пониманию особенностей механизмов ВЭБ-ассоциированного канцерогенеза в стране.

Работа поддержана грантом РФФИ № 07-04-00604.

*А.В. Соснов¹, М.Ю. Красавин¹, Р.Н. Каранетян¹,
 Е.В. Годовых¹, О.И. Солдаткина¹, И.Н. Станьков¹,
 С.В. Садовников¹, М.В. Киселевский²,
 Н.Ю. Анисимова³, А.А. Gakh³*

РАЗРАБОТКА НОВЫХ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ДЛЯ ТЕРАПИИ

РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹ЗАО «ИИХР», Химки, МО

²ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

³Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, TN, USA

Эффективность химиотерапевтических препаратов, применяемых в 1990-х гг. для лечения гормоно-резистентного рака предстательной железы (ГР РПЖ), была весьма незначительна (менее 10 %). Введение в клиническую практику в 2004 г. природного препарата группы таксанов доцетаксела, особенно при использовании его в комбинации с другими препаратами, позволило улучшить продолжительность жизни приблизительно в 1,5 раза, снизить уровень болевого синдрома, улучшить показатель ПСА и улучшить качество жизни пациентов в целом. Дальнейший прогресс в химиотерапии ГР РПЖ невозможен без появления новых более эффективных и доступных синтетических препаратов.

В рамках данного проекта по созданию новых средств терапии ГР РПЖ проведены:

Синтез и первичный роботизированный скрининг *in vitro* около 5 тысяч оригинальных низкомолекулярных гетероциклических соединений.

Более детальное исследование *in vitro* около 300 веществ, относящихся к более чем 10 хемотипам.

Синтез, биологические и химикоаналитические исследования перспективных природных полифенолов и их аналогов, относящихся к классам стильбенов и куркуминоидов.

Синтез и исследование ковалентных конъюгатов и нековалентных клатратов на основе наномолекул, специфичных к раковым клеткам.

В результате работы найдено около 100 новых высокоактивных ингибиторов пролиферации клеточных линий (DU-145 и PC-3) ГР РПЖ.

Значение IC₍₅₀₎ для наиболее активных веществ близко к уровню активности паклитаксела, используемого в качестве вещества сравнения.

На примере клеток гепатобластомы человека HepG2 показано, что неспецифическая цитотоксичность большинства перспективных веществ в области эффективных концентраций незначительна.

Показано, что некоторые наномолекулы обладают повышенной способностью ингибировать пролиферацию клеток ГР РПЖ относительно входящих в их состав низкомолекулярных веществ.

Показано, что клатраты активных веществ с циклодекстринами в ряде случаев показывают значительное усиление антипролиферативной активности *in vitro* (на порядок и более) по сравнению с действием индивидуальных веществ.

Эффект проявляется в отношении различных линий опухолевых клеток. Разработаны методы количественной оценки коммерчески востребованных активных полифенолов в природных материалах и пищевых продуктах.

Предварительная оценка механизмов действия исследованных веществ позволяет предположить, что среди наиболее активных веществ имеются ингибиторы полимеризации тубулина, ингибиторы некоторых киназ, ингибиторы топоизомераз и ингибиторы NF- κ B.

По результатам работ подано две РСТ заявки.

Исследование выполнено в рамках международной программы Discovery Chemistry Project/Prostate Cancer Chemotherapy (проект МНТЦ 3548p).

Н.М. Сураева¹, Е.А. Воротеяк², А.В. Самойлов³,
А.В. Васильев², А.Ю. Барышников¹

ПОЛУЧЕНИЕ, ХАРАКТЕРИСТИКА И ДОЛГОСРОЧНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ СТЕВЛОВЫХ КЛЕТОК КУР

¹ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

²ИБР РАН, Москва

³НИИПЗК, Московская область

Задачи. Разработка технологии культивирования и трансплантации генетически модифицированных эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) может открыть широкие возможности по использованию яйца кур для продукции фармацевтических белков. С этой целью были получены ЭСК из бластодисков индивидуальных эмбрионов птицы.

Материалы и методы. Клетки культивировали в среде Knockout DMEM (Gibco), содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Gibco), 6 нг/мл LIF (Sigma), 0,1 мМ -меркаптоэтанола, раствора незаменимых аминокислот (NEAA, Gibco), 1 мМ пирувата натрия (Gibco) и 2 мМ глутамин (Gibco).

Результаты. Были обнаружены значительные индивидуальные различия в ростовых характеристиках бластодермальных клеток из разных бластодисков. Обычно из 7-ми эмбрионов 1–2 давали рост ствольным клеткам. Характер роста ЭСК не зависел от наличия в среде куриной сыворотки. ЭСК представляли собой маленькие клетки с большим ядром и хорошо различимыми ядрышками, росли колониями в виде монослоя с четко различимыми границами между клетками. ЭСК экспрессировали маркеры плюрипотентности – положительная окраска на щелочную фосфатазу и SSEA-1.

После двух пассажей клетки начинали дифференцироваться и приобретать вид фибробластов с очень активным ростом или погибали. Было показано, что покрытие дна лунок желатином, наличие STO фидера и добавление или продуцирование самими стволовыми клетками определенных факторов роста являлись практически бесспорными необходимыми компонентами культивирования ЭСК.

В качестве фактора роста чаще использовался LIF, который добавляли как коммерческий препарат или в

составе кондиционированной среды, полученной после культивирования клеток линии BRL. Однако в наших экспериментах коммерческий LIF поддерживал культуру не более 2 пассажей, а добавление таких факторов, как bFGF и SCF, используемых при культивировании ППК, приводило к остановке трансформации бластодермальных клеток в ЭСК, несмотря на присутствие LIF.

Выводы. Получены культуры ЭСК, охарактеризованы некоторые морфологические и гистохимические особенности этих клеток и выявлены лимитирующие факторы, влияющие на процесс пролиферации.

И.Д. Трещалин, Э.Р. Переверзева, Д.А. Бодягин ТОКСИКОМОДИФИЦИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ДИКАРБАМИНА В ОТНОШЕНИИ ПРЕПАРАТОВ ПЛАТИНОВОЙ ГРУППЫ В КОМБИНАЦИИ С ЦИКЛОФОСФАМИДОМ

ГУ НИИНА им. Г.Ф. Гаузе РАМН, Москва

Введение. Ранее было показано, что дикарбамин ослабляет гематотоксическое действие циклофосфамида и ускоряет процесс восстановления кроветворения. В клинике ЦФ часто применяется в комбинации с препаратами платиновой группы, что делает актуальной попытку снижения токсичности комбинаций ЦФ с цисплатином, карбоплатином или циклоплатамом.

Материалы и методы. Исследование проведено на мышах-гибридах F₁(СВА С₅₇В1) самцах массой 20–24 г. Д вводили в желудок в дозе 0,5 мг/кг за 5 дней до и 5 дней после цитостатиков, которые применяли внутривенно однократно в дозах, эквивалентных МПД.

Было изучено влияние Д на гемато-, нефро- и гастроинтестинальную токсичность комбинаций. Гематотоксичность оценивали по количеству лейкоцитов в периферической крови, клеточности костного мозга и массе селезенки.

Нефротоксичность регистрировали по массе почки. Печень, селезенку и участки тонкой кишки подвергали патоморфологическому исследованию.

Результаты. Показано, что при включении Д в комбинации с ЦФ+ЦПТ; ЦФ+КАРБ; ЦФ+ЦП количество лейкоцитов в периферической крови на 3 сутки было в 2–3 выше, чем при применении цитостатиков; к 5 суткам число лейкоцитов достигало нижнего предела физиологической нормы, а к 7 суткам достигало исходного уровня.

В группах положительного контроля восстановления количества лейкоцитов происходило лишь к 15–21 суткам. Изученные комбинации цитостатиков вызывали снижение количества кариоцитов костного мозга в 4 раза по сравнению с интактным контролем, восстановление клеточности костного мозга наступало к 10 суткам.

Применение Д в этих комбинациях вдвое ослабляло степень кариоцитопении и ускоряло восстановление. МК селезенки на фоне Д на протяжении всего опыта были достоверно выше, а МК почек – ниже, чем в группах положительного контроля.

Патоморфологические исследования показали, что включение Д в комбинации практически не ослабляло повреждающего действия цитостатиков на ткани почки и тонкой кишки. Отмечено лишь ослабление отека. Исследование структуры селезенки подтвердило выраженное гематостимулирующее действие Д и способность препарата ускорять восстановление структуры кроветворных органов.

Заключение. Гематостимулирующие свойства Д, видимо, являются универсальными в отношении цитостатиков, что подтвердилось в экспериментах с препаратами платиновой группы и их комбинаций с ЦФ.

Е.М. Трещалина

ДИЗАЙН ДОКЛИНИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ АГЕНТОВ

ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Введение. Программа доклинического изучения противоопухолевой активности различных агентов стартует после принятия решения о перспективности клинических испытаний. Особенности современной химиотерапии заключаются в сокращении кандидатов для ДИ из известных классов противоопухолевых цитостатиков и в появлении новых препаратов, направленных на другие мишени. Таким образом, специфика современных лекарств направлена на уничтожение опухолевых клеток, снижение прогрессии, сохранение или коррекцию качества жизни пациентов. Среди фармакологически значимых мишеней клиническую роль играют различные маркеры опухолевого роста и иммунного ответа организма, а также биосистемы, участвующие в метаболизме противоопухолевых лекарств. Эффективность монотерапии и, особенно, комбинаций с использованием классических и новых препаратов, например, «таргетных» (направленных на конкретные молекулярные мишени) или модификаторов биологических реакций находит все больше подтверждений в разных клинических ситуациях. Соответственно, изменилась структура современного дизайна ДИ.

Структура ДИ. Цель ДИ – получение *in vivo* доказательной информации о противоопухолевой активности стандартизированной субстанции (С) и лекарственной формы (ЛФ) препарата при оптимальном пути введения в организм.

Этапы ДИ для С:

изучение основных характеристик противоопухолевого действия (диапазон эффективных доз, путь введения, спектр активности (в т.ч. на опухолях с гиперэкспрессией мишени); эффективность в адьювантном (послеоперационном) режиме и при проведении стандартных схем химиотерапии; изучение антиметастатического и противорецидивного эффектов; особенности механизма действия.

Этапы ДИ для ЛФ:

биологическая стандартизация на этапе разработки оптимальной ЛФ; подтверждение основных характеристик противоопухолевого действия; параллельное (проспективное) или историческое (ретроспективное) сравнение с возможным или обязательным прототипом; особенности фармакокинетики; определение показаний для клинического изучения нового препарата у онкологических пациентов (лечебный или адьювантный режим применения, модификатор эффективности).

Материал и методы ДИ. Объект: противоопухолевые цитостатики, «таргетные» агенты, в т.ч. вакцины, МБР (цитокины и т.п.), препараты сопровождения, обеспечивающие качество жизни пациента.

Методы исследования ориентированы на объект и его назначение:

прогностически значимые модели опухолевого роста *in vivo*, в т.ч. с гиперэкспрессией маркера; инбредные лабораторные животные (мыши); методы современной экспериментальной химиотерапии, молекулярной биологии, иммунологии, биохимии, цитологии и патоморфологии.

Формализация результатов ДИ. Результаты ДИ являются основанием для ДИ безвредности. Завершающим документом является Отчет в МЗиСР, который составляется по ГОСТ 7.32 2001.

Е.М. Трещалина, Л.А. Седакова, О.В. Параскевова, А.Ю. Барышников, С.Л. Киселев

ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМБИНИРОВАННОЙ ХИМИОТЕРАПИИ С БИВАЛАСПОМ

ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Введение. В лаборатории комбинированной терапии опухолей НИИ ЭДиТО завершено доклиническое изучение нового синтетического гексапептида биваласпа, представляющего собой иммуномодификатор с противоопухолевым действием, направленный на коррекцию иммуносупрессии, вызванной запущенным опухолевым процессом или агрессивным противоопухолевым лечением. Результатом коррекции является улучшение непосредственных и отдаленных результатов лечения. В работе представлены данные по оптимизации схемы применения биваласпа при проведении иммуносупрессивной химиотерапии (ХТ).

Материалы и методы. Для экспериментов выбраны схемы ХТ, рекомендованные для лечения рака шейки матки (цисплатин + топотекан или цисплатин + иринотекан), а также схемы VAD и CHOP, отличающиеся выраженной иммуносупрессией. Биваласп применяли одним или двумя 5-дневными курсами в разовой дозе 100 мкг/кг с началом лечения через 4–5 дней после проведения цикла ХТ (сроки проявления цитотоксической иммуносупрессии). Опыты проведены на мышах с различными перевиваемыми опухолями, чувствительными к ХТ и/или к биваласпу. Использованы лимфолейкоз Р388 при п/к и в/б трансплантации, п/к плазмацитома МОРС-406 и рак шейки матки РШМ-5. Критерии оценки эффективности лечения стандартные.

Результаты. Показано, что комбинированная моно- и двойная ХТ с биваласпом, примененным после или между циклами химиотерапии по указанной выше схеме, дает возможность достоверно повысить эффективность лечения. Терапевтический выигрыш при применении биваласпа заключается в замедлении скорости роста опухоли на 50–90 % ($p < 0,05$), продлении продолжительности жизни в 1,3–1,5 раза ($p < 0,05$) и блокировании лимфогенного метастазирования (РШМ-5). Ингибирующий эффект биваласпа при проведении химиотерапии не сопровождается ухудшением переносимости лечения.

Заключение. Препарат биваласп перспективен для клинического изучения в качестве иммуномодификатора, способного улучшить результаты лечения онкологических пациентов при многокурсовой химиотерапии (2–3 линии лечения). Оптимальным для проявления противоопухолевого эффекта биваласпа является проведение одного или нескольких 5-дневных курсов подкожных инъекций в сроки развития иммуносупрессии, вызванной агрессивной химиотерапией.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Правительства Москвы.

Е.М. Трещалина, Н.В. Андропова, Н.Т. Райхлин

ИЗУЧЕНИЕ ОНКОГЕННЫХ ПОТЕНЦИЙ РАЗЛИЧНЫХ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ИММУНОДЕФИЦИТНЫХ МЫШАХ

ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Введение. Применение новых медицинских иммунобиологических препаратов невозможно без исключения их туморогенности (онкогенные потенции). Для изучения этого эффекта используются различные методики; наиболее достоверной является подкожная имплантация препарата иммунодефицитным мышам.

Цель исследования. Оценить возможность изучения онкогенных потенций различных иммунобиологических препаратов на мышах *Balb/c nude* разведения

ГУ РОНЦ (лаборатория комбинированной терапии опухолей НИИ ЭДИТО).

Материалы и методы. Исследования проведены в рамках требований методических указаний «Аттестация перевиваемых клеточных линий – субстратов производства и контроля медицинских и иммунобиологических препаратов № РД-42-28-10-89» (М., 1989 г.). Для экспериментов использованы конвенциональные 6–8 недельные мыши-самки *Balb/c nude* 19–21 г, содержание – спец. отсек, 2 зоны, стерильные корм (МЭСТ, РФ), стерильная вода и бум. подстилка.

Изучены клеточные препараты: ККДЧ штамм ЛЭЧ 4/81 (ООО Компании «Медицина и биотехнологии», г. Екатеринбург), культура диплоидных клеток человека MRC-5 (ФГУП НПО «МИКРОГЕН» МЗ РФ), субстанция клеточной культуры фибробластов диплоидных человека штамм смbt-F (ООО «ЦМБТ Лабораторис», г. Москва). Структура опыта: мыши группы 1 (n=35) получали исследуемый препарат; мыши группы 2 (n=35) получали стандартную линию опухолевых клеток человека (эпителиоподобный рак легкого A-549 или рак кожи A-431). Прививочная доза при п/к имплантации 1,0 млн клеток, наблюдение 21 день. Выявление опухолевого роста: пальпация места имплантации, гистологическое исследование опухоли, регионарных и отдаленных лимфоузлов на 21 сут.

Результаты. В группах с A-549 получены гистологически верифицированные опухоли у 13 % мышей, в случае A-431 – у 57 % мышей, в лимфоузлах опухолевые клетки не выявлены. Полученные характеристики соответствуют стандартным линиям клеток. Ни один из 3 тестируемых препаратов не дал верифицированного опухолевого роста под кожей или в лимфоузлах иммунодефицитных мышей. Результаты исследований рецензированы в Фирме Стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А. Тарасевича (Национальном органе контроля, НИИ ГИСК).

Заключение. Конвенциональные половозрелые мыши-самки *Balb/c nude* разведения ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН могут быть использованы для изучения онкогенных потенциалов у медицинских иммунобиологических препаратов.

**В.А. Тронов¹, Д.Н. Артамонов², Л.Ю. Дедерер²,
М.Е. Абрамов³, Р.М. Личиницер³, Л.Б. Горбачева²
ОТВЕТЫ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ БОЛЬНЫХ
МЕЛАНОМой НА ХИМИОТЕРАПИЮ
И ТЕСТ-ВОЗДЕЙСТВИЕ
МЕТИЛНИТРОЗОМОЧЕВИНОЙ**

¹ИХФ им. Н.Н. Семёнова РАН, Москва

²ИБХФ им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва

³ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Цель исследования. Химиотерапия меланомы на поздних стадиях базируется на использовании алкилирующих агентов. Эффективность химиотерапии не превышает 20 %. Это связано как с устойчивостью клеток меланомы к генотоксическим воздействиям, так и высокой токсичностью алкилирующих агентов на стволовых кроветворных клетках CD34⁺, на Т-хелперах CD4⁺ и связанную с этим вероятность развития вторичных опухолей. В связи с этим актуальна задача прогноза ответа больных на химиотерапию с использованием неинвазивных молекулярных биомаркеров. В данной работе проводили сравнительное исследование ответов лимфоцитов крови больных меланомой на химиотерапию и на тест-воздействие метилнитрозомочевинной *in vitro*.

Материалы и методы. Химиотерапию больным с диагнозом меланома 3–4 стадии проводили согласно протоколу: дакарбазин 250 мг/м² в день, в/в струйно в течение 3 дней, ломустин 80 мг/м² внутрь (3 ч после

дакарбазина), цисплатин 80 мг/м² на 3-й день. В течение 5 дней до химиотерапии п/к вводили интерферон. До терапии и сразу после завершения курса у больных брали кровь из вены, выделяли лимфоциты, стимулировали добавлением ФГА и исследовали ответ лимфоцитов на химиотерапию, который сравнивали с ответом лимфоцитов тех же больных на тест-воздействие *in vitro*. Для воздействия в питательную среду с интактными клетками вводили O⁶BzG (120 мкМ) и/или МНМ (250 мкМ). Параметрами ответа были доля лимфоцитов с пермеабиллизованной мембраной (цитотоксичность); пролиферативный индекс лимфоцитов, определяемый по включению BrUdR, который детектировали с помощью анти-BrUdR FITC-антител; степень повреждения ДНК в лимфоцитах, оцениваемая с помощью двух вариантов метода ДНК-комет; внутриклеточное содержание белков MMR и экспрессия рецептора Fas, оцениваемые микроскопически по связыванию со специфичными к ним FITC-антителами; функциональная активность MMR определяемая по количеству ДР в ДНК стимулированных лимфоцитов в ответ на тест-воздействие.

Результаты. Показано, что параметры ответа лимфоцитов на тест-воздействие *in vitro* хорошо коррелируют с ответом лимфоцитов на химиотерапию. Отмечается относительно высокий уровень корреляции эффективности MMR (R=0,85, P=0,03) и в меньшей степени эксцизионной репарации оснований (BER) с тотальной поврежденностью ДНК в лимфоцитах после ХТ.

Заключение. Изученный набор параметров может быть информативен для прогноза ответа лимфоцитов на химиотерапию с вероятностью не менее 0,5.

**О.В. Уткин, Д.В. Новиков, А.В. Алясова, В.В. Новиков
АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА БЕЛКА FAS
В МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТКАХ КРОВИ
БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
НИИ МБурЭ ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Н. Новгород
НижГМА, Н. Новгород**

Введение. Мононуклеарные клетки крови экспрессируют мембранную и несколько растворимых изоформ Fas-белка. Механизмы действия растворимых изоформ Fas-белка (sFas) варьируют в зависимости от структуры молекулы. Мономерная форма sFas-белка ингибирует апоптоз, а ее олигомерный вариант участвует в передаче сигнала смерти в клетку.

Задачи исследования. Основной задачей работы явилась характеристика спектра форм мРНК Fas-белка во взаимосвязи с сывороточным содержанием его суммарной и олигомерной фракций при РМЖ.

Материалы и методы. Материалом исследования служили мононуклеарные клетки крови и сыворотка крови 74 здоровых доноров, 86 образцов мононуклеарных клеток крови и сыворотки крови больных РМЖ. Сравнительный анализ спектра форм мРНК Fas-белка проводили с помощью метода ОТ-ПЦР. Суммарную фракцию растворимого Fas-протеина определяли с использованием моноклональных антител ИКО-160 и поликлональных антител против антигенов мононуклеарных клеток. Олигомерную фракцию растворимого Fas-белка определяли с использованием в качестве первых и вторых антител МКА ИКО-160.

Результаты. Мононуклеарные клетки крови доноров синтезируют альтернативные варианты мРНК, соответствующие мембранной и пяти растворимым формам Fas-белка. Во всех образцах мононуклеарных клеток первичных больных были обнаружены мРНК, соответствующие мембранной (mFas) и доминирующей растворимой форме (FasExoTMDel). В 64 % случаев обнаруживались две дополнительные минорные формы мРНК Fas-белка (FasExo4,6Del и FasExo4Del),

а в 36 % случаев – одна дополнительная минорная форма мРНК (FasExo4,6Del). У пациентов, мононуклеарные клетки крови которых экспрессировали две минорные формы мРНК Fas белка, наблюдалось статистически значимое снижение сывороточного содержания олигомерного sFas на третьей и четвертой стадиях заболевания как по сравнению с больными, мононуклеарные клетки которых экспрессировали одну минорную форму, так и по сравнению с донорами.

Выводы. Выявленные спектры альтернативных форм мРНК Fas белка отражают особенности транскриптома мононуклеарных клеток крови больных раком молочной железы и потенциально могут иметь мониторинговое значение.

А.А. Фильченков¹, М.П. Завелевич¹,
В.А. Надгорная¹, Д.Ю. Блохин²

ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КЛОНАЛЬНОЙ Т-ЛИМФОБЛАСТНОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ JURKAT/A4, ОБЛАДАЮЩЕЙ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ

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

²ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Введение. Одним из лимитирующих факторов при химиотерапевтическом лечении онкологических больных является развитие в процессе лечения или независимо от него лекарственной устойчивости опухолей, особенно того ее варианта, при котором появляется устойчивость сразу ко многим препаратам с различными механизмами действия – множественной лекарственной устойчивости. Данное исследование продолжает цикл работ, посвященных характеристике клеточной линии Jurkat/A4, полученной в результате селективного культивирования Т-лимфобластных клеток Jurkat в присутствии эффекторных моноклональных антител IPO4 к рецептору смерти CD95/Fas/APO-1 (Патент РФ № 2267532).

Цель исследования. Сравнительный анализ экспрессии поверхностных антигенов на клетках родительской линии Jurkat и клональной линии Jurkat/A4.

Материалы и методы. Иммунофенотипирование цитопрепаратов клеток Jurkat и Jurkat/A4 проводили по стандартной методике EnVision (Dako, Дания). Для определения экспрессии отдельных антигенов (CD3, CD4, CD8, CD45R0, CD50, CD54, CD56, CD71, CD95) клетки исследовали методом проточной цитометрии на цитофлюориметре FACScan (Becton Dickinson, США).

Результаты. Фенотип родительской линии Jurkat и линии Jurkat/A4 по основным линейно-специфичным и дифференцировочным антигенам соответствует таковому Т-клеточной лимфобластной лимфомы¹. Клетки обеих линий экспрессируют рецептор трансферрина CD71, «рецепторы смерти» DR4 (TRAILR1) и TNFR1, но не экспрессируют рецептор IL-2 CD25. При сравнении двух линий обнаружены отличия в экспрессии поверхностных антигенов:

¹(CD1a⁺CD2⁺CD3⁺CD4⁺CD5⁺CD7⁺CD8⁺CD19⁺CD34⁺).

Подавление экспрессии CD50 (ICAM-3) в клетках Jurkat/A4 не отражается на экспрессии его лиганда CD54 (ICAM-1). Возможно, с повышенной экспрессией антигена NCAM (CD56) связано наблюдающееся в условиях суспензионной культуры Jurkat/A4 повышение межклеточной адгезии – клетки легко собираются в гигантские конгломераты.

А.А. Фильченков¹, М.П. Завелевич¹,
Н.Н. Храновская², Д.Ю. Блохин³

АКТИВАЦИЯ ВЕПЕЗИДОМ СИСТЕМЫ КАСПАЗ В КЛЕТКАХ ЛИНИИ JURKAT, НО НЕ В МУЛЬТИРЕЗИСТЕНТНОЙ СУБЛИНИИ JA4

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

²ГУ НИР, Киев

³ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Введение. Активация системы каспаз во время индукции апоптоза играет важную роль в реализации цитотоксического действия большинства известных противоопухолевых препаратов.

Снижение активности каспаз или их блокирование в опухолевых клетках может быть одним из факторов, способствующих утрате чувствительности к индуцированному апоптозу. Ранее в результате селекции Т-лимфобластных клеток линии Jurkat человека под действием моноклональных антител против рецептора Fas была получена мультирезистентная линия JA4 (Патент РФ № 2267532). Молекулярные механизмы ингибирования цитотоксических эффектов различных противоопухолевых препаратов в резистентных клетках JA4 нуждаются в детальном изучении.

Цель исследования. Сравнительный анализ активации двух инициаторных (-8; -9) и одной эффекторной (-3) каспаз в клетках мультирезистентной линии JA4 и родительской линии Jurkat в ответ на действие ингибитора ДНК-топоизомеразы II вепезида.

Материалы и методы. Уровень индукции апоптоза оценивали с помощью проточной цитометрии окрашенных пропидия йодидом клеток. Для выявления прокаспазы-3, -8 и -9, а также их зрелых форм использовали иммуноблот-анализ с применением моноклональных антител против указанных белков («Sigma», «BD Pharmingen» и «Beckman Coulter»). Количественную оценку содержания в клетках активной каспазы-3 проводили методом проточной цитометрии, используя набор «mAb Apoptosis Kit FITC» («BD Pharmingen»).

Результаты. Содержание гиподиплоидных (апоптотических) клеток после культивирования в присутствии вепезида (10 мкг/мл) на протяжении 18 ч составляло 36,3 и 8,9 % в культурах Jurkat и JA4, соответственно (см. табл.).

При этом задержка в прохождении митотического цикла клетками JA4 была значительно менее выраженной по сравнению с клетками Jurkat.

Линия	CD3	CD7	CD45dR0	CD50	CD56	CD95*
Jurkat	94–98%	97–99%	8–12%	95–99%	10–12%	60–80%
Jurkat/A4	30–33%	40–43%	0	0	50–54%	1–6%

*При длительном культивировании Jurkat/A4 в отсутствие анти-Fas-антител экспрессия CD95 частично восстанавливается, остальные фенотипические признаки остаются без изменений.

После культивирования клеток линии Jurkat в указанных условиях с везицидом в них активируется каспаза-3 (20,1 % в сравнении с 3,0 % в контроле). В то же время активация каспазы-3 в резистентных клетках JA4 выражена очень слабо. Аналогичные результаты активации каспазы-3 получены ранее при использовании в качестве индуктора апоптоза блеомицина. Образование зрелых форм инициаторных каспаз-8 и -9 в клетках JA4 не наблюдается, в отличие от клеток исходной линии, в которых наряду с каспазой-9 активируется и каспаза-8, по-видимому, независимо от традиционного пути рецепторной активации (Fas, APO-2, TNFR1 и др.). Такая возможность рецептор независимой активации каспазы-8 в условиях индуцированного этопозидом апоптоза продемонстрирована недавно L. Padrón-Barthe и соавт. (2008) в других клеточных системах. Различия в активации компонентов каспазной системы могут быть одним из факторов мультирезистентности линии JA4.

В.М. Шерстнев¹, Н.М. Перетолчина²,
Н.С. Сапрыкина², И.В. Манина², М.П. Шерстнев^е,
В.А. Хайленко³, А.М. Козлов^е

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ЦИКЛОФОСФАМИДА, ИММОБИЛИЗОВАННОГО НА НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ ЦЕРУЛОПЛАЗМИНА.

¹МЦ «ИТЭРА», Москва

²ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

³Кафедра онкологии ФУВ РГМУ, Москва

Введение. Церулоплазмин – гликопротеид 2-глобулиновой фракции сыворотки крови, обладающий широким спектром биологических эффектов: он является эндогенным антиоксидантом и иммуномодулятором, стабилизатором клеточных мембран, транспортным белком, ингибитором перекисного окисления липидов, стимулятором гемопоэза и т.д.

Цель исследования. Изучение возможности повышения противоопухолевого действия циклофосфамида путем иммобилизации его на низкомолекулярной фракции церулоплазмينا.

Результаты. Изучено действие циклофосфамида, иммобилизованного на низкомолекулярной фракции церулоплазмينا на рост и метастазирование карциномы легкого Льюис.

Препарат растворяли в физрастворе и вводили животным пятикратно внутрибрюшинно или подкожно в дозе 25 мг/кг в пересчете на циклофосфамид. При внутрибрюшинном способе введения на фоне проведенного лечения наблюдали торможение роста первичной опухоли Льюис на 7-е; 9-е; 14-е; 19-е; 24-е сутки опыта соответственно на 82; 55; 54; 51 и 48 %. Аналогичные показатели интактного циклофосфамида в эти же сроки равны 89; 79; 59; 58 и 45 %. При подкожном введении конъюгата отмечены выраженные местные побочные эффекты в виде изъязвления кожного покрова и отека подкожной клетчатки, исключающие данный способ введения препарата. При изучении антиметастатического действия циклофосфамида и конъюгата в аналогичных дозах и режиме применения (внутрибрюшинно в течение пяти последующих дней) выявлено торможение метастазирования опухоли Льюис после применения интактного циклофосфамида на 58 % и отсутствие антиметастатического эффекта после применения циклофосфамида, иммобилизованного на носителе.

Выводы. Конъюгат циклофосфамида, иммобилизованный на низкомолекулярной фракции церулоплазмينا при внутрибрюшинном пятикратном применении обладает противоопухолевой активностью, соизмеримой с таковой интактного циклофосфамида, использованного в той же дозе и режиме применения. Продол-

жаются экспериментальные исследования конъюгата с целью выявления возможных преимуществ по сравнению с интактным цитостатиком.

Т.Г. Щербатюк, К.В. Кулакова, М.Р. Гайнуллин УБИКВИТИЛИРОВАННЫЕ БЕЛКИ В ПЛАЗМЕ КРОВИ У ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОПУХОЛЮ

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

Цель исследования. Изучить изменение содержания убиквитилированных белков в плазме крови у животных с лимфосаркомой Плисса в процессе роста опухоли.

Материалы и методы. Эксперименты были выполнены на 100 белых нелинейных крысах, самцах. Модель неоплазии создавали путем перевивки опухолевого штамма Лимфосаркома Плисса, приобретенного в НИИ ЭДТО ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. Животные были распределены в 10 групп: контрольную, которую составляли интактные животные и 9 опытных, в которых вошли крысы с опухолью, срок роста которой составил 3; 6; 9; 12; 15; 18; 21; 24 и 27 суток.

Наличие убиквитилированных белков определяли методом дот-блоттинга, для характеристики убиквитин-белковых конъюгатов (УБК) применяли вестерн-блоттинг. При этом проводили электрофоретическое разделение белков с последующим электроблоттингом белковых зон на PVDF-мембрану.

Результаты. По данным дот-блоттинга, включающим (1) иммобилизацию смеси белков на PVDF-мембране (Millipore); (2) инкубацию с антиубиквитиновыми антителами (DAKO); (3) визуализацию иммунореактивности при помощи вторичных антител, конъюгированных с пероксидазой (Sigma), и хемилюминисцентного реактива ECL (Amersham), интенсивность и распределение антиубиквитиновой иммунореактивности в цельной плазме крови и во фракциях, полученных после воздействия сульфатом аммония, у интактных животных сходны с показателями животных-опухоленосителей с лимфосаркомой Плисса, срок роста которой составил 3 и 6 дней с момента перевивки.

Вестерн-блоттинг выявил набор мажорных форм УБК в тех же фракциях. В плазме крови крыс с лимфосаркомой, срок роста которой составил 12 и 21 день убиквитилированные белки регистрируются во всех исследованных фракциях, достигая максимальной интенсивности на поздних стадиях роста опухоли. Анализ спектра УБК в этих же пробах указывает на появление новых белковых зон с увеличенной антиубиквитиновой иммунореактивностью.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о качественном и количественном изменении содержания убиквитилированных белков в плазме крови животных-опухоленосителей в процессе опухолевого роста.

Р.И. Якубовская¹, А.А. Панкратов¹, О.А. Безбородова¹,
Е.Р. Немцова¹, Т.Н. Андреева¹, Ю.Б. Венедиктова¹,
О.Л. Калия², Е.А. Лукьянцев²

БИНАРНЫЕ КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ КАК ХИМИО- И РАДИОМОДИФИКАТОРЫ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ)

¹ФГУ «МНИОИ им. П.А.Герцена», Москва

²ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва

Цель исследования. Изучение химио- и радиомодифицирующего действия бинарных каталитических систем (БКС) на основе препаратов «Оксикобаламин-лио» (Ок), «Терафтал-лио» (Тф) и «Эфитер».

Материалы и методы. Исследования проводили на мышках с перевиваемыми опухолями различного гистогенеза (лимфолейкоз Р-388 (Р-388), АМЖ Са-755 (Са-755), АКЭ, КЛЛ), варьируя дозы препаратов, режимы их применения и облучения (источник – кобальт-60).

Результаты. Модифицирующие свойства БКС «Ок+Ак», «Тф+Ак» и «ЭТФ+Ак» изучены в отношении эффективности цисплатина, циклофосфана, доксорубина (Др), 5-фторурацила (5-Фу) и интаксела (Инт). Установлено, что эти БКС повышают эффективность монотерапии ДДП, Инт, 5-Фу в среднем на 60 %.

Максимальный терапевтический эффект у мышей с Р-388, Са-755 и АКЭ был отмечен при комбинированном применении исследуемых БКС и препарата цисплатин. У животных наблюдали повышение эффективности лечения по сравнению с монотерапией цисплатином на 40–110 %. В этих экспериментах удалось снизить дозу высокотоксичного цитостатика в 2–4 раза без снижения лечебного эффекта.

При изучении противоопухолевой эффективности комбинированного применения БКС на основе Ок, Тф и ЭТФ и лучевой терапии было установлено, что эти БКС являются эффективными радиомодификаторами. Так, у мышей с АКЭ при тотальном облучении животных и при использовании в качестве радиомодификатора БКС «Ок+Ак» и «Тф+Ак» в 100 и 70 % случаев соответственно наблюдали полное излечение животных от опухоли. На другой опухолевой модели – LLC, которая является более резистентной к терапии БКС и лучевой терапии, исследуемые БКС приводили к повышению эффективности лечения на 25 %.

Комбинированное применение 3 методов лечения – бинарной каталитической терапии (БКС на основе Ок и ЭТФ), химиотерапии (препарат цисплатин) и лучевой терапии приводило к повышению эффективности лечения (по ингибированию роста опухоли) на 45–50 % по сравнению с эффективностью лечения только цисплатином или лучевой терапии.

Заключение. Таким образом, проведенные исследования показали, что БКС на основе Ок, Тф и ЭТФ являются эффективными химио- и радиомодификаторами.

Работа выполнена при финансовой поддержке Правительства г. Москвы.

М.Н. Якунина¹, С.В. Зонтов¹, Г.А. Меерович²,
Е.М. Трещалина¹, Б.Я. Коган³, О.Л. Каляя³,
О.Н. Ворожцов³

ПЕРВЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛАЗЕРНОЙ ТЕРМОХИМИОТЕРАПИИ ПОВЕРХНОСТНЫХ ОПУХОЛЕЙ КОЖИ У ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КАТАЛИТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ТЕРАФТАЛ + АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА

¹ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

²ИОФ им. А.М. ПРОХОРОВА РАН, МОСКВА

³ФГУП ГНЦ НИОПИК, Москва

Введение. Локальная гипертермия, в том числе лазерная (Л-ГТ), используется в качестве одного из консервативных методов лечения поверхностных опухолей у собак различного генеза.

Однако по эффективности этот метод уступает хирургическому лечению. Для изучения возможности повышения эффективности Л-ГТ в настоящей работе апробирована новая бинарная каталитическая система терафтал + аскорбиновая кислота (ТФ+АК), которая находится на 2 фазе клинического изучения в гуманитарной клинике.

Материалы и методы. В исследование включены 12 собак и 1 кот с диагнозами: карцинома слизистой правого носового хода, плоскоклеточный неороговевающий рак дисневого края верхней челюсти, гистиоцитарная саркома, злокачественная фиброзная гистиоцитома кожи, фибросаркома, лимфома, меланома, неороговевающий плоскоклеточный рак кожи и мастоцитомы кожи.

Животным вводили ТФ+АК (90+168 мг/м²) капельно в/в последовательно и через 1 ч 45 мин проводили Л-ГТ ~45°C 15 – 30 мин. Термометрию выполняли с помощью термомпары, фиксированной под ложе и на поверхности опухоли. Оценка эффективности лечения стандартная: объективный эффект (ОЭ=ПР+ЧР) и суммарный эффект (СЭ=ПР+ЧР+СТ). Для выявления метастазирования и возможных побочных эффектов выполнено полное клиническое обследование. После 1–2 измерений опухоли определяли показания для оперативного удаления узла. Наблюдение за животными проводили в течение 2 мес после лечения.

Результаты. Комбинированная термотерапия Л-ГТ+ТФ+АК была высокоэффективна в 4 из 5 случаев гистиоцитомы или гистиосаркомы кожи: ПР=3/5, СТ=1/5, а также при 2 случаях плоскоклеточного рака края верхней челюсти и карциномы слизистой носа: ПР=2/2. В группе из 7 животных с гистиоцитарными и плоскоклеточными опухолями головы объективный эффект составил 71 %, общий эффект – 86 %. В 3 случаях лимфомы, меланомы и фибросаркомы эффективность низкая: ЧР=1/3, СТ=2/3. Мастоцитомы кожи не ответили на лечение: ПГ=3/3. Стимуляции метастазирования не зарегистрировано. В группе из 13 животных с различной локализацией поверхностных опухолей ОЭ=38 %, СЭ=62 %. Переносимость воздействия оценена как удовлетворительная, лимитирующих побочных эффектов нет.

Заключение. Указанный уровень эффективности метода Л-ГТ+ТФ+АК достаточен для положительной оценки и превышает крайне малочисленные сведения в литературе об эффективности неаблазивной лазерной гипертермии (45 °C) при лечении животных с указанными опухолями. При гистиоцитарных опухолях и плоскоклеточных опухолях головы следует продолжить изучение для определения терапевтического вклада ТФ+АК и получения статистически значимых результатов комбинированного лечения.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Правительства Москвы.

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ

Ю.В. Алексеев¹, Е.В. Лихачева¹, Е.М. Борисова¹,
Д.В. Терешкин¹, Г.В. Пономарев²

ИЗУЧЕНИЕ НАКОПЛЕНИЯ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ ХЛОРИНОВОГО РЯДА ПРИ ПАТОЛОГИИ ЛОР-ОРГАНОВ

¹ФГУ ГНЦ ЛМ Росздрава, Москва

²ГУ НИИ БМХ РАМН, Москва

Данное исследование проведено с целью изучения физических параметров и оценки терапевтической

эффективности применения ФДТ с фотосенсибилизаторами – циклическими тетрапирролами хлоринового ряда в комплексном лечении больных оториноларингологическими заболеваниями.

В исследовании принимали участие 39 больных, распределенные на 2 нозологические группы: 9 пациентов с хроническими тонзиллитами и 30 с риносинуситами. В качестве фотосенсибилизаторов были применены следующие соединения хлоринового ряда:

фотодитазин, радахлорин, бальзам Залевского. Облучение производилось при помощи аппарата лазерного фотодинамического режима воздействия, программируемый ЛАХТА-«МИЛОН»-ML500-SP с λ 662 нм. Для проведения спектрометрии применялась установка лазерная электронно-спектральная ЛЭСА-01-БИОСПЕК.

В результате исследования выявлен процент снижения флюоресценции препаратов хлоринового ряда под воздействием лазерного излучения у пациентов, страдающих риносинуситами: флюоресценция фотодитазина снижается на 53 %, радахлорина – на 56,3 %, бальзама Залевского – на 65 %; у пациентов с хроническими тонзиллитами – на 56,5 % снижается флюоресценция радахлорина, на 50 % – флюоресценция фотодитазина.

На основании проведенного, по нашей методике исследования накопления фотосенсибилизатора в слизистых оболочках можно заключить, что исследуемые препараты способны одинаково хорошо накапливаться при различных воспалительных заболеваниях полости носа и ротоглотки. Интенсивность флюоресценции препаратов хлоринового ряда достоверно снижается после облучения источниками света с λ 662 нм. Установлена эффективность ФДТ с аппликационным применением производных хлорина Е6 в оториноларингологии.

ФДТ с наружным применением тетрапирролов хлоринового ряда является новым и эффективным способом лечения оториноларингологических заболеваний, позволяет добиться хороших клинических результатов в краткие сроки лечения этих заболеваний и имеет ряд преимуществ перед применяемыми до сих пор методиками.

С.А. Аминодов, М.Л. Гельфонд, Э.Н. Рябова

ЭНДОБРОНХИАЛЬНАЯ И ИНТРАОПЕРАЦИОННАЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ РАКА ЛЕГКОГО

ГУЗ ООД, ИВАНОВО

Задача исследования. Определение возможности применения эндобронхиальной и интраоперационной фотодинамической терапии в хирургическом лечении больных немелкоклеточным раком легкого.

Материалы и методы. Интраоперационная фотодинамическая терапия проведена 10 больным немелкоклеточным раком легкого II–IIIА стадии проходившим хирургическое лечение в условия онкологического диспансера. В том числе 4 пациентам с центральным раком легкого (РЛ), которым фотодинамическая терапия проводилась дважды – на первом этапе (дооперационно) эндобронхиально, для уменьшения размеров первичной опухоли, и на втором этапе интраоперационно. Во время операции для определения степени накопления фотосенсибилизатора в тканях проводилась локальная спектроскопия с помощью спектрально-флюоресцентной диагностической установки «Спектр-Кластер». Эндобронхиальная ФДТ проводилась по стандартной методике. Интраоперационная ФДТ проводилась на зону медиастинальной лимфодиссекции, культю бронха и париетальную плевру.

Фотодинамическая терапия проводилась препаратом фотодитазин в дозе 1 мг/кг и лазерным облучением через 2 ч аппаратом «Аткус-2», плотность энергии 350 и 150 Дж/см² при эндобронхиальной и интраоперационной ФДТ соответственно.

Результаты. У трех пациентов с центральным раком легкого эндобронхиальная ФДТ уменьшила размеры опухоли, а в одном случае был достигнут

полный эффект, что позволило выполнить меньший объем операции. Интраоперационная спектроскопия показала, что экзогенная флюоресценция фотодитазина детектируется в первичной опухоли и метастатических лимфоузлах и не детектируется в неизмененных тканях.

При этом спектр накопления фотодитазина в ложе удаленных лимфоузлов был выше, чем в неизмененных тканях, что подтверждалось наличием опухолевых клеток в мазках-отпечатках из зоны лимфодиссекции.

После проведения интраоперационной фотодинамической терапии отмечалось увеличение сброса экссудата по дренажам в течение первых двух суток. Других особенностей и осложнений течения послеоперационного периода не выявлено.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют о значимости метода флюоресцентной спектроскопии и фотодинамической терапии в лечении больных раком легкого.

И.П. Аминодова, С.А. Аминодов, Э.Н. Рябова **ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ВУЛЬВЫ**

ГУЗ ООД, ИВАНОВО

Задача исследования. Изучить эффективность метода фотодинамической терапии в лечении заболеваний вульвы.

Материалы и методы. Фотодинамическая терапия проведена 8 пациенткам с заболеваниями вульвы в возрасте от 23 до 67 лет. В том числе 4 женщинам с лейкоплакией вульвы, 3 пациенткам с остроконечными кондиломами и 1 больной с плоскоклеточным раком вульвы II стадии. У 6 женщин (75 %) при ПЦР-исследовании диагностирована ВПЧ-инфекция, из них у 2 выявлены 16 и 18 типы вируса.

Лазерное воздействие осуществлялось через 2 ч после местной аппликации фотосенсибилизатора на участок поражения слизистой при помощи полупроводникового лазерного аппарата «Аткус-2». λ составила 662 нм при плотности энергии 150 Дж/см², мощности лазерного излучения на выходе 1 Вт и времени воздействия от 6 мин. (остроконечные кондиломы) до 20 мин (при раке вульвы).

Результаты. Эффективность методики оценивалась на основании данных кольпоскопии, и цитологического исследования. При раке вульвы после лечения произведена контрольная биопсия.

У всех пациенток с остроконечными кондиломами и у 3 женщин с лейкоплакией вульвы отмечен полный клинический эффект лечения. Эпителизация слизистой полностью завершилась через 4 нед. У одной пациентки с грубой лейкоплакией перианальной зоны отмечено улучшение местного статуса, заживление трещин, уменьшение зуда и исчезновение болей.

При проведении контрольного ПЦР-исследования (через 1 мес. после ФДТ) ни у одной из пациенток ВПЧ не определялись.

У пациентки с раком вульвы краевая эпителизация началась спустя 3 нед. от проведения ФДТ, полная эпителизация слизистой отмечена через 6 недель. При контрольном цитологическом и гистологическом исследованиях атипических клеток не обнаружено.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют о том, что фотодинамическая терапия является высокоэффективным методом лечения и может служить средством выбора для пациенток с патологией вульвы.

Ю.А. Белый, А.В. Терещенко, М.А. Плахотный
**ИНТРАВИТРЕАЛЬНАЯ
 ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ
 ВНУТРИГЛАЗНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО
 ПРОЦЕССА С ПРЕПАРАТОМ ФОТОДИТАЗИН**

КФ ФГУ МНТК МГ им. акад. С.Н. Федорова, Калуга

Цель исследования. Оценить эффективность интравитреальной антибактериальной фотодинамической терапии с фотосенсибилизатором хлоринового ряда в лечении экспериментального эндофтальмита.

Материалы и методы. 30 глаз (30 кроликов) с экспериментальным эндофтальмитом (*Enterococcus faecium*). Животные были разделены на 3 группы по 10 особей. В I группе не позднее 12 ч после заражения проводили субтотальную витрэктомию. Во II группе проводили витрэктомию с клафораном, 16 мг/мл, в качестве ирригационного раствора.

В III группе выполняли витрэктомию с АФДТ по разработанной методике: в витреальную полость вводили раствор ФС 0,001% до уровня радужки, после чего глаз герметизировали на 10 мин, затем ФС удаляли из глаза; через склеротомическое отверстие в витреальную полость вводили моноволоконный кварцевый световод с диффузором и проводили интравитреальное облучение лазером с λ 662 нм и минимальной плотностью энергии 5 Дж/см². Выполнены микробиологические, клинические и морфологические исследования. Срок наблюдения – до 72 ч с момента заражения.

Результаты. АФДТ позволяет значительно уменьшить количество микроорганизмов в витреальной полости как сразу после вмешательства, так и в период до 72 ч. Аналогичные данные получены и при применении витрэктомии с использованием раствора клафорана. Клиническая картина при использовании антибиотика и АФДТ сходная, характеризуется стиханием явлений воспаления на вторые–третьи сутки после лечения. Морфологические исследования показали, что при проведении витрэктомии в сочетании с антибиотикотерапией или АФДТ степень выраженности гистологических изменений была достоверно ниже по сравнению с изолированной витрэктомией ($p < 0,005$).

Заключение. Предложенная методика интравитреальной АФДТ является эффективной в лечении экспериментального эндофтальмита. Необходимо проведение дальнейших исследований по изучению безопасности АФДТ для внутриглазных структур.

Ю.А. Белый¹, А.В. Терещенко¹, П.Л. Володин¹,
 М.А. Каплан², В.В. Шаулов¹
**ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА ПРИ
 ПРОВЕДЕНИИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ
 ТЕРАПИИ В ОФТАЛЬМОЛОГИИ**

¹КФ ФГУ МНТК МГ им. акад. С.Н. Федорова, Калуга

²ГУ МРНЦ РАМН, Обнинск

Цель исследования. Оценка возможностей флюоресцентной диагностики при проведении фотодинамической терапии с фотосенсибилизатором хлоринового ряда в офтальмологии.

Материалы и методы. Клинические исследования включали 16 пациентов (16 глаз) с неоваскулярной офтальмопатологией (9 случаев с хориоидальной неоваскуляризацией, 2 случая с неоваскуляризацией радужки и 2 – с васкуляризованными бельмами роговицы) и 3 пациентов с меланомами хориоидеи (МХ).

В работе использовался отечественный хлориновый фотосенсибилизатор – препарат фотодитазин (бис-N-метилглюкаминная соль хлорина е6) (ООО «ВЕТА-ГРАНД», Россия) (регистрационное удостоверение № ЛС – 001246 от 10.02.2006).

Результаты. Флюоресцентная диагностика с фотосенсибилизатором фотодитазин является критерием

«достаточности» лазерного облучения, определяемого по мере «выгорания» (выцветания) препарата в ходе фотодинамической реакции.

Последнее существенно облегчает техническое выполнение лазерного облучения, в особенности при внутриглазных опухолях больших размеров, требующих использования нескольких полей облучения. Оптимальными временными интервалами от момента введения препарата до лазерного облучения в ходе фотодинамической терапии являются: для неоваскуляризации роговицы, радужки и сосудистой оболочки глаза – 10–15 мин, а для внутриглазных новообразований – 90–120 мин.

Заключение. Полученные клинические данные позволяют оптимизировать методику и повысить эффективность фотодинамической терапии с препаратом фотодитазин в лечении различной неоваскулярной офтальмопатологии и внутриглазных новообразований.

Ю.А. Белый¹, А.В. Терещенко¹, П.Л. Володин¹,
 М.А. Каплан²

**СОЧЕТАНИЕ
 ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ
 И ИНТРАВИТРЕАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ
 ИНГИБИТОРОВ АНГИОГЕНЕЗА В ЛЕЧЕНИИ
 ХОРИОИДАЛЬНОЙ НЕОВАСКУЛЯРИЗАЦИИ**

¹КФ ФГУ МНТК МГ им. акад. С.Н. Федорова, Калуга

²ГУ МРНЦ РАМН, Обнинск

Цель исследования. Оценка клинической эффективности фотодинамической терапии в сочетании с интравитреальным введением ингибиторов ангиогенеза в лечении хориоидальной неоваскуляризации.

Материалы и методы. Под наблюдением находилось 9 пациентов (9 глаз) с хориоидальной неоваскуляризацией (ХНВ) различной этиологии. Острота зрения (ОЗ) до лечения варьировала от 0,1 до 0,5. За 1 нед. до фотодинамической терапии с фотодитазинем всем пациентам проводилось интравитреальное введение препарата авастин в дозе 1,25 мг/кг.

В 6 случаях авастин вводился однократно и в 3 – двукратно (с интервалом между инъекциями 1 мес).

Показаниями для повторного введения препарата являлось сохранение экстравазальной флюоресценции («ликеджа»).

Для проведения ФДТ использовали фотосенсибилизатор фотодитазин, который вводился внутривенно капельно в минимальной клинической дозе 0,8 мг/кг веса с продолжительностью 10 мин.

Через 5 мин после окончания введения препарата проводили транспупиллярное лазерное облучение области хориоидальной неоваскулярной мембраны, которое выполнялось под эпibuльбарной анестезией с использованием контактной роговичной линзы «Ocular PDT 1,6x» («Ocular instruments», США) с плотностью энергии 20–25 Дж/см² и диаметром пятна от 2,0 до 4,5 мм, в зависимости от максимального линейного размера мембраны.

Сроки наблюдения составили от 3 мес. до 1 года.

Результаты. Через 3 мес. после проведения комбинированного лечения ОЗ улучшилась на 7 глазах (на 0,1–0,32) и осталась неизменной на 2 глазах. К 1 году после лечения повышение остроты зрения достигнуто на 6 глазах; на 2 ОЗ соответствовала исходной до лечения и в 1 случае снизилась (на 0,1) в связи с рецидивом ХНВ.

Заключение. Сочетание ФДТ с препаратом фотодитазин и интравитреального введения ингибиторов ангиогенеза позволяет значительно повысить эффективность лечения ХНВ со стабилизацией и улучшением функциональных показателей в 89 % случаев, а также снизить частоту рецидивов ХНВМ.

Ю.А. Бельй, А.В. Терещенко, П.Л. Володин, В.В. Шаулов
ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА
ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ФДТ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
НЕОВАСКУЛЯРИЗАЦИИ
ХОРИОИДЕИ И РОГОВИЦЫ

КФ ФГУ МНТК МГ им. акад. С.Н. Федорова, Калуга

Цель исследования. Оценка возможностей флюоресцентной диагностики при проведении фотодинамической терапии с фотосенсибилизатором хлоринового ряда в эксперименте.

Материалы и методы. Экспериментальные исследования проводились на 26 кроликах породы шиншилла с индуцированными моделями неоваскуляризации хориоидеи (18 глаз 18 кроликов) и неоваскуляризации роговицы (8 глаз 8 кроликов).

Фотосенсибилизатор фотодитазин вводили болюсно в дозе 2,4 мг/кг веса. Лазерное облучение при проведении флюоресцентной диагностики осуществляли расфокусированным пучком ($\varnothing$ от 4 до 16 мм) с плотностью мощности 20–40 мВт/см² в различные временные интервалы после введения фотосенсибилизатора.

Результаты. При проведении фотодинамической терапии хориоидальной неоваскуляризации, равно как и неоваскуляризации роговицы, оптимальным временем для лазерного облучения следует считать интервал, соответствующий максимуму контрастирования неоваскулярной сети, до начала выраженного экстравазального выхода препарата во избежание нежелательного фотодинамического повреждения прилежащих интактных глазных структур.

Исследования динамики накопления фотосенсибилизатора фотодитазин методом флюоресцентной диагностики *in vivo* позволили определить оптимальное время для лазерного облучения в ходе фотодинамической терапии неоваскуляризации роговицы и сосудистой оболочки глаза, соответствующие временным интервалам 10–15 мин от введения препарата.

Заключение. Полученные экспериментальные данные являются основой для оптимизации и повышения эффективности фотодинамической терапии с фотодитазин в лечении неоваскулярной офтальмопатологии (васкуляризированных белым роговицы, неоваскуляризации радужки, хориоидальной неоваскуляризации).

Ю.А. Бельй¹, А.В. Терещенко¹, А.В. Шацких², И.А. Молоткова¹, М.А. Каплан¹, Р.А. Бродский³, Л.Н. Бандурко³
ПЕРВЫЙ ОПЫТ ЛЕЧЕНИЯ
ВНУТРИГЛАЗНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ
МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО ЛИЗИСА

¹КФ ФГУ МНТК МГ им. акад. С.Н. Федорова, Калуга

²ФГУ МНТК МГ им. акад. С.Н. Федорова, Москва

³ФГУ МРНЦ РАН, Обнинск

Цель исследования. Разработка метода электролитического лизиса внутриглазных новообразований большого размера и морфологическое изучение воздействия электрохимической абляции на структуру меланомы сосудистой оболочки глаза человека.

Материалы и методы. Исследование проводилось у пациента К. (58 лет) с меланомой хориоидеи большого размера Т₃Н₀М₀ (высота проминенции – 12,8 мм, $\varnothing$ основания – 15 на 18 мм), подлежащей энуклеации (предварительным этапом выполнена процедура электрохимического лизиса МХ). Проведено гистологическое исследование энуклеированного глаза.

Результаты. Патогистологический диагноз: МХ, состояние после электролизиса, слабопигментированная, преимущественно веретеноклеточная (тип АВ), с выраженным полиморфизмом ядер и клеток, инфильтрирующая внутренние слои склеры, с обширными очагами некроза. Некроз значительной части опухоли, 84%. Нек-

ротизированная ткань МХ повсеместно подвергается захвату и перевариванию многочисленными макрофагами, при этом активность их наиболее выражена вокруг анода. В области катода происходит резкое расширение просвета крупных сосудов наряду с деструкцией стенок капилляров с обширными кровоизлияниями в некротизированную ткань.

Прогноз в отношении дальнейшей редукции опухоли гипотетичен: разрушение сосудов на большом расстоянии вокруг катода позволяет предположить ее более определенный распад в отдаленный срок. Большая сохранность сосудов в мало измененном у анода фрагменте опухоли может способствовать выживанию и прогрессии его клеток, несмотря на более высокую макрофагальную активность в этой области.

Заключение. Полученные данные могут являться морфологическим обоснованием для использования ЭХЛ в офтальмоонкологии как самостоятельного метода органосохранного лечения хориоидальных меланом больших размеров.

Н.Н. Булгакова

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ
ФЛЮОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ
В КЛИНИЧЕСКОЙ ОНКОЛОГИИ

ИОФ ИМ. А.М. ПРОХОРОВА РАН, МОСКВА

ЛФС основана на регистрации спектров флюоресценции биологических тканей при возбуждении в УФ или видимом диапазонах спектра и является чувствительным неинвазивным методом, позволяя получать количественную информацию о флюоресценции биологических тканей при контакте волоконно-оптического катетера с поверхностью кожи или слизистой оболочки полого органа. Основную сложность представляет интерпретация спектральных данных, полученных *in vivo*. Создание надежных методик измерений спектров и расчетов спектрально-флюоресцентных диагностических алгоритмов позволяет в реальном времени (*in vivo*) получать объективную количественную информации о наличии патологии в той точке поверхности ткани, где производятся измерения спектров.

Для флюоресцентной диагностики рака метод ЛФС используется самостоятельно либо в комбинации с эндоскопическими методами получения изображений – как в белом свете, так и в свете эндогенной или экзогенной флюоресценции. Последний подход более перспективен для флюоресцентной диагностики ранних форм рака слизистых дыхательных путей, мочевого пузыря и др. полых органов. При этом наиболее эффективен алгоритм расчета спектрально-флюоресцентных диагностических параметров, учитывающий соотношение экзогенной и эндогенной флюоресценции ткани. Объем ткани, анализируемый методом ЛФС, зависит от ее оптических свойств на λ возбуждения и в среднем составляет 1–4 мм³, что сравнимо с V ткани, удаляемой щипцовой биопсией. Размер выборки в случае ЛФС значительно больше, поскольку спектры можно измерять из множества точек, а количество биопсий ограничено. За время, необходимое для одной биопсии, можно измерить большое количество спектров на поверхности ткани. В целом, как доказали клинические исследования, ЛФС повышает диагностическую точность исследований.

Для целей ФДТ применение ЛФС позволяет:

- 1) проводить неинвазивный контроль накопления и выведения ФС в тканях пациентов с целью оптимизации времени проведения ФДТ;
- 2) контролировать фотофизическое состояние ФС с целью планирования тактики проведения ФДТ;
- 3) контролировать реакцию биологической ткани на световое воздействие по спектрам лазер-индуцированной аутофлюоресценции.

Н.Н. Брысин, К.Г. Линьков, Т.А. Савельева, В.Б. Лощенов
**УНИВЕРСАЛЬНЫЙ ИЗМЕРИТЕЛЬ
 МОЩНОСТИ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ
 ДЛЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ВОЛОКОННО-
 ОПТИЧЕСКИХ СИСТЕМ ДОСТАВКИ СВЕТА**
 ИОФ ИМ. А.М. ПРОХОРОВА РАН, МОСКВА

Проведение точных измерений выходной оптической мощности лазерных установок с волоконно-оптическим выходом является актуальной задачей при флюоресцентной диагностике и фотодинамической терапии, особенно при терапии внутриполостных органов.

Задачу измерения мощности направленного излучения можно успешно решить с помощью существующих серийных измерителей мощности. Однако для измерения мощности излучения, выходящего из рассеивающего наконечника оптического волокна требуется использовать дополнительные приспособления, например, сферу Ульбрихта (она же интегрирующая сфера). Сфера Ульбрихта позволяет измерять мощность излучения от наконечников оптических волокон любой конфигурации, но имеет ряд недостатков, не позволяющих применять ее при проведении сеансов ФДТ.

Авторы данной работы в качестве решения проблемы оперативного измерения мощности лазерного излучения, исходящего из волоконно-оптических систем доставки света различных конфигураций, предлагают использовать рассеиватель, выполненный с возможностью рассеяния излучения по собственному объему, по меньшей мере, один фотоприемник, расположенный на поверхности рассеивателя таким образом, чтобы обеспечить возможность регистрации уровня падающего на него излучения. Это позволяет ощутимо сократить габариты устройства и решить проблему с точным позиционированием оптического волокна.

Во время проведения терапии в санитарных целях была предусмотрена извлекаемая стеклянная колба. Измеряемые оптические волокна не вводятся непосредственно в рассеиватель, а вводятся в небольшую стеклянную колбу, которая установлена в рассеивателе измерителя мощности. После проведения сеанса терапии колбу можно вынуть и продезинфицировать. Такой подход позволяет не только соблюдать санитарные нормы, но и устранять различные загрязнения, которые могли образоваться в полости рассеивателя, если бы волокно вводилось непосредственно в рассеиватель.

Данное устройство уже длительное время применяется в ЗАО «Биоспек» для тестирования новых и эксплуатирующихся терапевтических лазеров.

Оригинальность и эффективность решений, использованных при разработке измерителя мощности РМ-3-Biospec, подтверждается полученным российским патентом RU79176U1.

Н.В. Бурмистрова, М.А. Каплан, Г.В. Пономарев, А.И. Малыгина

**ИЗУЧЕНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ
 АКТИВНОСТИ АМИДОАМИНХЛОРИНА**

ГУ МРНЦ РАМН, Обнинск

Введение. Фотосенсибилизаторы амидоаминхлорин (I) и (II) разработаны профессором Г.В. Пономаревым в Институте биомедицинской химии РАМН на основе взаимодействия метилфеофорбида а с различными первичными аминами. Амидоаминхлорины обладают определенными преимуществами по сравнению с известными ФС на основе хлорина е6 (фотолон, радахлорин, фотодитазин). Наиболее перспективным, по нашему мнению, является амидоаминхлорин (I), который заметно превосходит известные ФС по эффективности воздействия на раковые опухоли по сравнению с хлорином е6. Этот препарат не растворим в воде, но легко может быть переведен в липосомальную форму и использован для

в/в применения. Для экспериментальных исследований может быть также применен раствор в водном димексиде. Амидоаминхлорин является химической модификацией периферических заместителей хлорина Е6. Один из пиков поглощения находится на волне 662 нм, высокая степень фототоксичности связана с высоким квантовым выходом интерконверсии, что коррелирует с высоким квантовым выходом синглетного кислорода. Спектральные характеристики амидоаминхлорина (I), как в спирте, так и в воде, позволяют использовать его с теми же лазерами, которые применяются для других ФС хлоринового ряда, т.е. с максимумом излучения при 662 нм. С другой стороны, амидоаминхлорин в липосомальной форме в воде имеет максимум поглощения при 666 нм, что позволяет использовать для его облучения также и другие, более длинноволновые, лазеры, например, с λ излучения при 668 нм и даже ниже.

Цель исследования. Изучение специфической активности амидоаминхлорина в растворе и липосомальной форме для фотодинамической терапии саркомы М-1 (крысы) и карциномы Эрлиха (мышь).

Материалы и методы. Работа выполнена на 170 беспородных крысах (самки) с перевитой под кожу в область бедра саркомой М-1 и на 80 беспородных мышах (самцы) с имплантированной карциномой Эрлиха. Контролем служили интактные животные-опухоленосители. Исследуемый фотосенсибилизатор амидоаминхлорин использовали в растворимой и липосомальной форме для внутрибрюшинного введения. Облучение проводили через 1,5 ч после введения сенсибилизаторов на полупроводниковом лазерном аппарате «Аткус-2» (λ 662 нм).

Результаты. В данной работе предусматривается исследование модифицированного фотосенсибилизатора на основе хлорина Е6 для фотодинамической терапии разных видов злокачественных новообразований (соединительнотканной саркомы М-1 и асцитной эмбриокарциномы Эрлиха).

При изучении эффективности ФДТ с амидоаминхлорином обнаружили, что препарат обладает высокой фотодинамической активностью, большим коэффициентом контрастности (отношение концентрации в опухоли и нормальной ткани составляет 10:1), быстрым клиренсом (выведение препарата происходит через 3–4 ч после введения). Быстрое выведение амидоамина из организма разрешает проблему кожной фототоксичности, свойственную большинству применяемых в клинике фотосенсибилизаторов. Благодаря быстрому накоплению в опухоли с высоким градиентом контрастности между опухолевой и нормальной тканью, амидоаминхлорин позволяет сократить лечебную процедуру с нескольких суток до 2–3 ч. Максимум накопления препарата в опухоли саркома М-1 наступает через 1 ч.

ФДТ с раствором амидоаминхлорин приводит к полной регрессии опухоли в 80 % случаев. После ФДТ с липосомальным амидоаминхлорином полную регрессию опухоли наблюдали в 100 % случаев. Важно отметить тот факт, что амидоаминхлорин обладает высокой фотодинамической активностью при дозах в 3–4 раза ниже, чем терапевтические дозы используемых в клинической практике сенсибилизаторов. При этом отмечали результативные разрушения опухоли при минимальном повреждении мышечно-соединительнотканых и сосудистых структур бедра.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности разработки приемов и методов повышения эффективности ФДТ за счет использования в качестве ФС амидоамина хлорина, поскольку при минимальной дозе препарата и относительно невысокой плотности энергии достигается высокий терапевтический эффект при отсутствии глубоких некродистрофических и рубцовых изменений.

Н.Е. Васильев

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ФДТ В ОНКОЛОГИИ

СЦЛМ, Новосибирск

ФДТ является сложным воздействием, важным компонентом которого является влияние на клетки иммунной системы. Уникальность биологического действия ФДТ обусловлена индукцией повреждений биологических структур под действием АФК и окислов азота, природных регуляторов клеточной пролиферации, метаболизма и апоптоза. В настоящее время рассматривается три основных механизма противоопухолевого эффекта ФДТ: прямое повреждение опухолевых клеток, нарушение сосудистой стромы опухолей, элиминация под действием иммунных клеток. Важным фактором индукции ФДТ-опосредованного иммунного ответа является повреждение клеточных мембран и сосудов опухоли. Фотоокислительные нарушения индуцируют выделение медиаторов, провоцирующих местную воспалительную реакцию. Следствием этих процессов является окклюзия сосудов опухоли и индуцированная цитотоксическая активность клеток воспаления в отношении опухолевых клеток. Разрушение клеток и сосудов опухолей служит пусковым фактором развития специфических иммунных реакций. Рекрутируемые в область опухоли макрофаги и дендритные клетки захватывают и презентуют опухолевые антигены, обеспечивая узнавание опухолеспецифических эпитопов Т-лимфоцитами и их последующую активацию. Хотя специфическая иммунная реакция может быть менее значимой, чем другие эффекты ФДТ на ранних стадиях процесса, она важна для долгосрочного контроля роста опухоли. Доказанное наличие иммунологического компонента фотодинамического воздействия позволяет говорить не только о перспективности сочетания методов ФДТ и иммунотерапии для улучшения результатов лечения онкологических заболеваний, но и о возможном применении иммуномодулирующих воздействий ФДТ с целью коррекции иммунологических реакций как в эксперименте, так и в клинике.

В.Н. Волгин¹, Е.Ф. Странадоко², М.В. Садовская¹, М.В. Рябов²

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ФДТ БАЗАЛЬНОКЛЕТОЧНОГО РАКА КОЖИ РАЗЛИЧНЫХ ЛОКАЛИЗАЦИЙ С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОМ ФОТОДИТАЗИН

¹ГВКГ им. акад. Н.Н. Бурденко, Москва

²ГНЦ ЛМ МЗ и СР РФ, Москва

Введение. Проблема лечения базальноклеточного рака кожи актуальной для населения страны в целом. Это обусловлено уровнем заболеваемости, рецидивирующим характером течения, частой локализацией на открытых участках кожного покрова, особенно на лице, недостаточной эффективностью существующих методов терапии, значимыми косметическими дефектами.

Задачи исследования. Отработка схем ФДТ при различных клинических формах БКРК в зависимости от рецидивирования опухолей.

Материалы и методы. В ГВКГ им. Н.Н. Бурденко совместно с ГНЦ лазерной медицины МЗ и СР РФ лечение методом ФДТ с фотодитазинном проведено 127 больным с БКРК, в возрасте от 20 до 93 лет (в среднем 66,2 года), мужчин 98 (77,2 %), женщин 29 (22,8 %). Больные первичным БКРК встречались чаще (66,9 %), чем рецидивным (33,1 %). Использовали лазерные установки Аткус-2, Кералаз, Кристалл. Выходная мощность лазеров составляла 0,1–3,0 Вт. Плотность мощности излучения 0,1–1,50 Вт/см². Оценка результатов ФДТ проводилась по следующим критериям: полная резорбция опухоли – отсутствие визуальных и пальпаторных признаков опухолевого роста; частичная резорбция, уменьшение раз-

меров опухоли не менее чем на 50 %; без эффекта, уменьшение размера опухоли менее чем на 50 %.

Результаты. В целом по выборке ПР опухолей наступила у 118 (92,9 %) больных, частичная – у 9 (7,1 %). Абсолютной резистентности к ФДТ не было.

После ПР опухолей у 118 больных рецидивы в дальнейшем возникли у 11 (10,3 % случаев). Частота рецидивов при ФДТ первичного БКРК значимо ниже, чем при рецидивном ($p < 0,05$). В процессе исследования отработана доза световой энергии при использовании фотодитазина. Оценена эффективность доз световой энергии от 50 до 500 Дж/см². Наиболее оптимальной дозой для поверхностных очагов оказалась 100–200 Дж/см², солидных образований – 200–300 Дж/см², а язвенных и экзофитных форм опухолей с глубоким инфильтративным ростом – 300–500 Дж/см².

А.В. Гейниц, Е.Ф. Странадоко

ВОЗМОЖНОСТИ ФДТ С ФОТОДИТАЗИНОМ В ОНКОЛОГИИ

ФГУ ГНЦ ЛМ РОСЗДРАВА, МОСКВА

Введение. Фотодитазин (N-диметилглюкаминная соль хлорина е₆) – препарат растительного происхождения, созданный на основе производных хлорофилла, получаемого из биомассы микроводоросли *Spirulina platensis*. Основными достоинствами фотодитазина с точки зрения клинициста являются краткосрочный пик и высокая селективность наполнения в опухоли, высокий квантовый выход синглетного периода и быстрое удаление из организма (интенсивный клиренс). Немаловажной является и большая λ возбуждающего света (662 нм), обеспечивающая более глубокое проникновение в биологические структуры светового потока с адекватной плотностью мощности. Все это позволяет за короткое время разрушать глубоко расположенные опухоли без нежелательной длительной кожной фототоксичности.

Клинические испытания фотодитазина проведены в ГНЦ лазерной медицины в 1998 г. Первые обнадеживающие результаты позволили нам расширить сферу применения ФДТ с фотодитазинном на труднодоступные для лечения локализации.

Задачи исследования. Изучение эффективности ФДТ с фотодитазинном проведено по 3 протоколам:

1. При первичном и рецидивном раке кожи – у 54 больных.
2. При раке внепеченочных желчных протоков, желчного пузыря и большого дуоденального сосочка – у 6 больных.
3. С паллиативной целью для реканализации при обтурирующем раке пищевода, кардиального отдела желудка, трахеи, крупных бронхов – у 19 больных.

Материалы и методы. Фотодитазин применяли в дозах от 0,3 до 1,5 мг/кг. Средняя доза составила 0,8 мг/кг. Минимальная эффективная доза – 0,3 мг/кг.

Использовали диодные лазеры «Милон» с выходной мощностью 2,5 Вт, λ 662 нм, а также твердотельный лазер на алеминате иттрия «Полус-2» с выходной мощностью до 2 Вт, λ 670 нм (производство НИИ «Полус», Россия). Плотность мощности при наружном облучении составляла 0,3 Вт/см², плотность энергии 180–240 Дж/см². При ФДТ внутренних органов плотность энергии колебалась от 75 до 300 Дж/см².

С целью реканализации ФДТ повторяли через 7–14 дней, добиваясь поэтапного восстановления просвета трубчатого органа.

Результаты. Из 79 больных 55 проведено по одному курсу ФДТ, 2 курса – 11, а 3–5 курсов ФДТ – 8 больным. Всего 79 больным проведено 113 курсов ФДТ: 110 – с в/в фотодитазина, 3 – с внутритканевым.

Полная резорбция достигнута у 52 (63 %) больных, частичная – у 27 (37 %), получавших ФДТ с паллиативной целью (среди них у 12 – с целью реканализации пищевода, кардии, трахеи и бронхов и у 3 с распространенным раком рото- и носоглотки). Более половины больных с полной резорбцией опухоли пережили 5-летний период, т.е. практически излечены от рака.

Заключение. Фотодитазин – высоко активный фотосенсибилизатор, применимый для ФДТ рака наружных и внутренних (висцеральных) локализаций. Быстрое выведение фотодитазина из организма практически полностью разрешает проблему кожной фототоксичности, свойственную большинству применяемых в клинике фотосенсибилизаторов. Благодаря быстрому накоплению в опухоли с высоким градиентом контрастности между опухолевой и нормальной тканью фотодитазин позволяет сократить всю лечебную процедуру с нескольких суток до 2–3 ч. Это свойство фотодитазина, наряду с высоким коэффициентом контрастности и имеющимися недорогими портативными надежными диодными лазерами с соответствующей λ света, делает его весьма привлекательным фотосенсибилизатором для ФДТ.

А.А. Гладышев, Л.В. Телегина, В.В. Соколов, И.В. Решетов, Л.Э. Завалишина, С.Г. Кузьмин, Г.Н. Ворожцов

ЭНДОЛАРИНГЕАЛЬНАЯ ЭЛЕКТРО-ЛАЗЕРНАЯ ХИРУРГИЯ И ФДТ ПРИ ВИРУССОЦИИРОВАННОМ РЕЦИДИВИРУЮЩЕМ ПАПИЛЛОМАТОЗЕ ГОРТАНИ И ТРАХЕИ

ФГУ МНИОИ им. П.А.Герцена
ГУП «МНКЦ «Интермедбиофизхим»

Разработан метод комбинированного эндоскопического лечения при ВАРП гортани и трахеи. На первом этапе лечения проводилась Nd:YAG-лазерная термоабляция и/или аргоноплазменная коагуляция папиллом гортани. На втором этапе (после полного хирургического удаления папиллом) выполнялась ФДТ с адыювантной и противовирусной целью. Оба этапа лечения проводились с помощью гибкой видеоэндоскопической аппаратуры.

В 1995–2008 гг. по данной схеме лечение ВАРП гортани проведено 36 больным. Плоскоклеточная папиллома с дисплазией I–II ст. сочеталась у 13 (36%), дисплазией III ст. – у 5 (14%), раком *in situ* – у 4 (11%) пациентов. ВПЧ (HPV) был выявлен методом гибридизации у 29 (96%) из 30 больных (HPV общего типа – в 21%, 6/11 типы – в 83%; 16/18 типы – в 17% случаев).

Для адыювантной ФДТ использовались фотосенсибилизаторы радахлорин, фотосенс и аласенс (5-ALA) – индуктор протопорфирина IX. Для облучения гортани применялись диодные лазеры (ν 662; 670; 635 нм) при плотности энергии от 80 до 200 Дж/см².

Полная регрессия в зависимости от распространенности в гортани и трахее – 78–100%. Исчезновение HPV достигнуто в 65% случаев. После завершения комбинированного лечения в сроки от 5 до 18 мес, рецидив в гортани диагностирован у 14 (39%) больных, максимальный срок наблюдения без рецидивов – 7 лет.

В.А. Дербенев, Ф.Е. Шин, П.Г. Мамонтов, А.Д. Соловьёва, И.Ю. Кулешов

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ В ТКАНЯХ, ФОРМИРУЮЩИХ ОЖОГОВУЮ РАНУ

ФГУ ГНЦ ЛМ ФМБА, Москва

Для проведения ФДТ ожоговых ран важно знать кинетику накопления и выведения фотосенсибилизаторов в тканях, формирующих ожоговую рану. Изучение распределения фотосенсибилизатора в тканях, форми-

рующих ожоговую рану, методом локальной спектроскопии показало, что диффузия фотосенсибилизатора в глубину через струп при обеих лекарственных формах фотодитазина (раствор, гель) достаточна. В случае применения холосенса интенсивность флюоресценции с внутренней стороны ожогового струпа в 25 раз меньше, чем с внешней, что указывает на низкую диффузию холосенса в глубь тканей ожоговой раны. В случае покрытия ожоговой раны раствором фотосенса типичные спектры флюоресценции этого препарата достоверно детектированы как с внешней, так и внутренней стороны струпа, при этом распределение интенсивности флюоресценции фотосенса было более однородно, чем для холосенса. Интегральная интенсивность флюоресценции на внутренней поверхности струпа была в среднем в 7 раз меньше, чем с внешней поверхности струпа. В случае применения холосенса его диффузия в ткани ожоговой травмы крайне незначительна. При использовании фотодитазина, иммобилизованного методом комплексирования лекарственных средств на амфифильных полимерах, отмечена более быстрая и полная диффузия в глубину тканей через ожоговый струп. Таким образом, диффузия фотосенсибилизатора в ткани ожоговой травмы, достаточная для проведения ФДТ, выявлена при использовании фотосенса и фотодитазина.

В.А. Евтушенко¹, А.Н. Солдатов², И.В. Реймер², М.В. Вусик¹

ЛАЗЕРНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ КОМПЛЕКС ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ «ЛИТТ-ФДТ»

¹ГУ НИИО СО РАМН, Томск

²ТГУ, Томск

Введение. Одним из новейших подходов к лечению злокачественных новообразований является ФДТ. Этот метод, основанный на лекарственной фотосенсибилизации опухолей и последующем световом воздействии, является перспективной технологией, позволяющей добиваться селективного разрушения опухоли с максимальным сохранением здоровой ткани. Для лечения злокачественных новообразований методом ФДТ используются различные типы лазеров, в основном – полупроводниковые лазерные установки, главными недостатками которых являются дискретность λ и ориентация только на 1 тип фотосенсибилизатора.

Материалы и методы. В работе представлен лазерный медицинский комплекс «ЛИТТ-ФДТ» с возможностью плавной перестройки λ в широком диапазоне, перекрывающем большинство полос поглощения выпускаемых современных фотосенсибилизаторов.

Задачи исследования. Создание новой лазерной системы для ФДТ с возможностью плавной перестройки λ в широком диапазоне. Основа разработки – ЛК с накачкой излучением ЛПМ. За счет плавной перестройки λ эта лазерная система является универсальной и позволит работать в паре с любым ФС в диапазоне λ 630–700 нм, ЛМК имеет автоматизированное управление от ПК, позволяющее изменять параметры генерируемого излучения и задавать режим работы с помощью оригинальной программы, делающей его удобным в эксплуатации.

Результаты. В течение года проводилась клиническая апробация ЛМК «ЛИТТ-ФДТ»+ ФДТ с фотодитазинем, в лечении базальноклеточного рака кожи у пациентов с тяжелой сопутствующей патологией. Непосредственный эффект 3 мес. у 13 больных отмечена полная регрессия опухоли, 2 проведены повторно сеансы ФДТ с хорошим эффектом (4–6 мес).

Выводы. Применение ФДТ с фотодитазинем при лечении базальноклеточного рака кожи с использованием лазерного комплекса «ЛИТТ-ФДТ» позволяет провести адекватное лечение опухоли.

К.В. Ермакова¹, И.Ю. Кубасова¹, З.С. Смирнова¹,
Л.М. Борисова¹, М.П. Киселева¹, Н.А. Оборотова¹,
И.Г. Меерович¹, Г.А. Меерович³, Е.А. Лукьянец²,
Г.Н. Ворожцов²

ЗНАЧЕНИЕ ФДТ ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ЛЕЧЕНИИ ГЛИОМ КРЫС

¹ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н.БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

²ФГУП ГНЦ НИОПИК, Москва

³ЦЕНИ ИОФ ИМ. А.М.ПРОХОРОВА РАН, МОСКВА

Введение. Злокачественные глиомы являются наиболее распространенными первичными опухолями головного мозга. Несмотря на усовершенствование методов лечения, прогноз для больных с глиомой остается неблагоприятным. Так, медиана выживаемости больных с мультиформной глиобластомой после частичной резекции опухоли составляет 8,8 мес, при полном удалении – 11 мес. После ЛТ медиана выживаемости не превышает 12 мес, при сочетании ЛТ и химиотерапии с темодалом – 15 мес. При использовании ФДТ для адьювантной терапии, медиана выживаемости достигает 21 мес.

Цель исследования. Оценка эффективности ФДТ с использованием отечественного фотосенсибилизатора тиосенс в комбинированном лечении глиомы С6 крыс.

Материалы и методы. Глиому С6 перевивали интракраниально крысам породы Wistar по 400–10³ опухолевых клеток. Тиосенс в липосомальной лекарственной форме вводили в/в в дозе 3 мг/кг через 6 дней после перевивки опухоли и за 24 ч до проведения ФДТ. Уровень накопления тиосенса оценивали спектрально-флюоресцентным методом. Лазерное облучение проводили в дозе 120 Дж/5 мм². Лизомустин вводили в/в однократно в дозе 80 мг/кг. Критерием эффективности служило увеличение продолжительности жизни опытных крыс по сравнению с контрольными животными (УПЖ, %).

Результаты. При проведении исследования установлено, что тиосенс проникает через гематоэнцефалический барьер и селективно накапливается в глиоме С6, достигая максимального уровня на 7 день после перевивки опухоли и через 24 ч после введения препарата. Терапевтическая эффективность ФДТ с использованием тиосенса при лазерном облучении через трепанационное отверстие составляет 42 % УПЖ, в сочетании с декомпрессионной краниэктомией (3–4 мм) – 54 %, а в сочетании с резекцией опухоли – 68 %. Наибольшая терапевтическая эффективность – 84 % – УПЖ наблюдается при комбинированном лечении с использованием хирургического удаления опухоли, ФДТ с тиосенсом и ХТ. При функциональной оценке микрососудов опухоли установлено динамическое увеличение их проницаемости, достигающее максимума через 3 ч после сеанса ФДТ. При иммуногистохимическом исследовании показано, что их количество в опухоли достоверно уменьшается через 3 дня после терапии.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о повышении эффективности лечения глиом при использовании ФДТ с тиосенсом в комбинированном лечении опухолей головного мозга.

Е.В. Загайнова¹, М.В. Ширманова^{1,2}, М.А. Сироткина¹,
И.В. Балалаева², М.С. Клешин³, А.Г. Орлова^{1,3}

ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЯ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ IN VIVO

¹НиЖГМА, Н. Новгород

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

³ИПФ РАН, Н. Новгород

Введение. Эффективность флюоресцентной диагностики и фотодинамической терапии определяется уровнем накопления фотосенсибилизатора в опухоли и особенностями его распределения в нормальных тканях.

Цель исследования. Оценка возможностей метода диффузионной флюоресцентной томографии (ДФТ) для наблюдения биораспределения фотосенсибилизаторов *in vivo*.

Материалы и методы. Объектом исследования служили здоровые мыши гибриды BDF1, мыши линии СВА с привитым подкожно раком шейки матки РШМ-5 и гибриды BDF1 с карциномой легкого Льюис LLC. Использованы препараты фотосенс, аласенс, фотодитазин. Двумерные изображения получали на диффузионном флюоресцентном томографе ФДТ-2М (ИПФ РАН, г. Н. Новгород). Сканирование животных выполняли *in vivo* до введения препарата (контроль), через 0,5; 1; 2; 3; 24; 48; 72 ч.

Результаты. Накопление фотосенсибилизаторов в органах и тканях приводит к возрастанию ДФТ-сигнала в соответствующих участках изображения. Показана прижизненная динамика накопления фотосенсибилизаторов в опухоли, коже и органах брюшной полости.

Продемонстрирована возможность идентификации печени, почек, мочевого пузыря на изображении по форме и локализации флюоресцирующих зон. Установлено, что в результате внутривенного введения фотосенса и фотодитазина уже через 30 мин происходит увеличение уровня сигнала по всей площади изображения за счет циркуляции препаратов в крови.

Через 1,5–2 ч отмечена преимущественная концентрация их в опухоли и органах брюшной полости. При этом интенсивность сигнала в печени соизмерима и даже выше, чем в опухоли. Возрастание сигнала в опухоли и нормальных тканях в результате накопления 5-алаиндуцированного ПпIX наблюдается позднее, через 3–4 ч.

Динамика накопления фотосенсибилизаторов в тканях и органах здоровых животных и животных с опухолями не отличается. При этом картина распределения фотосенсибилизаторов в органах брюшной полости животных характеризуется индивидуальностью. Результаты ДФТ подтверждены методами флюоресцентной спектроскопии и конфокальной микроскопии *ex vivo*.

Заключение. Полученные результаты открывают перспективу использования метода ДФТ для прижизненного мониторинга биораспределения новых фотосенсибилизаторов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты №№ 07-02-01262, 07-02-01146).

Ю.П. Истомин, В.Н. Чалов, Е.А. Ваккер, Д.А. Церковский ФДТ БАЗАЛЬНОКЛЕТОЧНОГО РАКА КОЖИ С ПРЕПАРАТОМ ФОТОЛОН

ГУ РНПЦ ОМР ИМ. Н.Н. АЛЕКСАНДРОВА, МИНСК

Цель исследования. Изучение эффективности, переносимости и косметического эффекта ФДТ с препаратом фотолон, производства РУП «Белмедпрепараты» (Республика Беларусь).

Материалы и методы. Методом ФДТ с препаратом фотолон были пролечены 54 пациента с морфологически верифицированными базальноклеточными карциномами кожи (T₁N₀M₀) с преимущественной локализацией в области головы и шеи.

Среди них были 21 (38,9 %) мужчина и 33 (61,1 %) женщины в возрасте 25–79 лет, в среднем – 53,9 года. В общей сложности был пролечен 61 очаг. Фотолон вводили внутривенно капельно в течение 30 мин в дозе 2,0–2,5 мг/кг.

Световое воздействие осуществлялось в условиях специально подготовленной светозащитной палаты через 1–3 ч после инъекции препарата с использованием полупроводникового лазера LD680 (Биоспек, Москва) с λ 671 нм и мощностью излучения световода 0,107–0,997 Вт в световой дозе 50–300 Дж/см².

Плотность энергии составила 0,1–1,14 Вт/см², время облучения – 3–33,33 мин. Минимальный размер опухоли был 0,5 см, максимальный – 1,5 см. Осложнений во время инфузии препарата и проведения сеанса ФДТ не было. В течение 3–4 дней после проведенного лечения пациенты строго соблюдали световой режим.

Результаты. Эффективность лечения оценивали через 1–2 мес. после сеанса ФДТ с препаратом фотолон. ПР опухолей была достигнута в 87,04 % случаев, частичная регрессия – в 9,26 %, стабилизация – в 1,85 % и продолжение роста опухоли – в 1,85 % случаев. Объективный терапевтический эффект составил 98,15 %. В сроки наблюдения 3–60 мес. у 6 пациентов отмечено возникновение точечных рецидивов, успешно излеченных с использованием хирургического метода и короткофокусной рентгенотерапии.

Выводы. При фотодинамической терапии с препаратом фотолон достигнуты высокие терапевтические и косметические результаты, что позволяет говорить о данном методе как о прекрасной альтернативе традиционным методам лечения базальноклеточного рака кожи.

М.А. Каплан, В.А. Ольшевская, Р.Г. Никитина, А.Н. Савченко, В.Н. Калинин, А.В. Зайцев, М.М. Мойсенович, А.А. Рамонова, Ф.Ф. Штиль

ВОЗМОЖНОСТИ БОРИРОВАННОГО ХЛОРИНА В КАЧЕСТВЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ФДТ

ГУ МРНЦ РАМН, Обнинск

Цель исследования. Изучение эффективности борированного хлорина как фотосенсибилизатора при проведении ФДТ в эксперименте на моделях опухолей саркома М-1 и меланомы В-16.

Материалы и методы. Исследования были проведены на мышках и крысах. Препарат вводили внутривенно в дозах: 2,5; 5,0; и 10,0 мг/кг массы животного. Плотность энергии лазерного излучения составляла 150 и 300 Дж/см², плотность мощности – 0,25; 0,42 и 0,44 Вт/см². Наблюдения за животными велись в течение 21 дня. Эффективность лечения оценивали по коэффициенту абсолютного прироста опухоли, проценту полной регрессии опухоли, торможению роста опухоли относительно контроля – нелеченных животных и проценту животных с метастазами в легких.

Результаты. ФДТ саркомы М-1 крыс при облучении лазером с плотностью энергии 300 Дж/см² и плотности мощности 0,42 Вт/см² вызывала стойкую полную регрессию опухоли при всех испытываемых дозах фотосенсибилизатора. При лечении меланомы В-16 мышшей наиболее эффективной ФДТ оказалась при дозе борированного хлорина 10,0 мг/кг, плотности энергии лазерного излучения 150 Дж/см² и плотности мощности 0,25 Вт/см². При других изученных параметрах опыта в целом по группам были получены положительные результаты, но у отдельных животных на 10–21 после начала лечения мог появиться продолженный рост опухоли. Тем не менее, на 21-е ни у одного животного не было метастазов в легких. В контроле они были зарегистрированы в разных группах в 28,6–43,3 % случаев.

Исследование поддержано грантами РФФИ 08-03-999084-r-ofi и 09-04-97511-r-centre_a.

М.А. Каплан, Г.В. Пономарев, Н.В. Бурмистрова, А.И. Малыгина

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМБИНИРОВАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ФДТ И ХТ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

ГУ МРНЦ РАМН, Обнинск

Введение. Современная терапия злокачественных новообразований не ограничивается применением од-

ного способа лечения, а использует их комбинированное воздействие. Это вызвано тем, что каждый из используемых методов имеет наряду с преимуществами и недостатки, которые необходимо компенсировать.

Цель исследования. Изучение противоопухолевой эффективности комбинированного воздействия фотодинамической терапии с фотосенсибилизатором амидоамин хлорина Е6 и химиотерапии с цитостатиком широкого спектра действия цисплатином.

Материалы и методы. Работа выполнена на 90 беспородных крысах (самки) с перевитой под кожу в область бедра саркомой М-1 и на 80 мышках-гибридах (СВА С₅₇Bl₆)-F1 (самки) с имплантированной меланомой В16. Контролем служили интактные животные-опухоленосители. Цисплатин в дозе 1,62 мг/кг (что соответствует половине рекомендуемой клинической дозы с учетом перерасчета на животных) вводили внутривенно трижды в неделю на 1; 4; 7 сут после пальпаторного определения опухолевого узла. На 8-е сутки проводили фотодинамическую терапию с фотосенсибилизатором амидоамин хлорина в дозе 2,0 мг/кг. Облучение проводили через 1,5 ч после введения сенсибилизатора на полупроводниковом лазерном аппарате «Аткус-2» (λ – 662 нм), E – 150 Дж/см², P_s – 0,38 Вт/см². Эффективность воздействия оценивали по проценту полной регрессии и коэффициенту абсолютного прироста опухоли.

Результаты. Комбинированное воздействие фотодинамической и химиотерапии показало высокую противоопухолевую эффективность, которая превышала показатели применения методов в отдельности. Полная регрессия опухоли при фотодинамической терапии с указанными параметрами составила 40 %, а коэффициент прироста опухолей – 49,24, что в 3 раза ниже контрольных показателей (163,08). При изучении эффективности цисплатина отмечена четкая зависимость результата лечения от дозы введенного цитостатика. При введении половины рекомендуемой дозы полная регрессия составила 50 %, рост остальных опухолей был достоверно ниже контроля. При комбинации обоих методов лечения с указанными параметрами полная регрессия наблюдалась в 80 % случаев, а коэффициент прироста – в 10 раз ниже контроля.

Заключение. Полученные данные указывают на перспективность комбинированного применения ФДТ и ХТ онкологических новообразований.

М.А. Каплан, А.М. Шубина СИСТЕМНАЯ ВНУТРИВЕННАЯ ФДТ В КОМБИНИРОВАННОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ III–IV СТАДИИ

ГУ МРНЦ РАМН, Обнинск

Цель исследования. Оценить возможности системной внутривенной ФДТ в комбинированном лечении онкобольных с метастазами.

Материалы и методы. Эффективность возможности системной внутривенной фотодинамической терапии была изучена у 98 пациентов с различной локализацией опухолевого процесса. У 22 из них метастазы локализовались только в лимфатических узлах, у 23 – в лимфатических узлах и мягких тканях, у 31 одного пациента диагностировалось метастатическое поражение внутренних органов и костей. Всем пациентам в течение предыдущих 1–8 лет проводилось комбинированное лечение (хирургическое, лекарственное, ЛТ). 15 пациентов получали на данном этапе лечения внутривенную ФДТ в виде монотерапии.

Системная ФДТ реализована по следующей методике: в кубитальную вену внутривенно капельно вводили фотосенсибилизатор хлоринового ряда в дозе 0,8–1,7 мг/кг массы тела.

Одновременно проводили внутривенное облучение крови в кубитальной вене противоположной руки на лазерных аппаратах с λ 661 нм при следующих параметрах: $P=10-20$ мВт, $t=30-50$ мин. Курс системной ФДТ состоял из 2 процедур с перерывом в 5–6 дней. 20 пациентов получили более одного курса внутривенной ФДТ (2–5). 45 из 98 пациентов проводилось исследование показателей иммунного статуса до и после курса ФДТ.

Результаты. 34 пациента, получивших внутривенную ФДТ, отметили повышение качества жизни в виде уменьшения болевого синдрома, уменьшения общей слабости, улучшения аппетита.

У 16 пациентов с метастазами в лимфатические узлы после внутривенной ФДТ пораженные узлы пальпаторно уменьшались, становились более эластичной консистенции, при этом конгломераты разделялись на отдельные участки, изменялась их экзогенность по данным УЗИ. У 5 пациентов внутрикожные метастазы переставали определяться как пальпаторно, так и по данным УЗИ. У 25 больных с поражением лимфатических узлов и паренхиматозных органов наблюдалась стабилизация процесса в виде отсутствия новых очагов в течение 6–12 мес. после лечения. У 4 больных с метастатическим поражением печени по данным УЗИ отмечалось уменьшение метастатических очагов, изменение их ультразвуковой структуры. При метастатическом поражении легких у 10 больных наблюдалась стабилизация процесса в виде отсутствия новых очагов в течение 6–10 мес. после лечения. Медиана времени до прогрессирования метастазами в легкие составила 6,0 2,1 мес. При оценке иммунного статуса выявлена нормализация показателей клеточного иммунитета после ФДТ.

Заключение. Системная ФДТ может быть с эффектом применена в комбинированном лечении при онкологических заболеваниях, что способствует улучшению качества жизни пациентов. Данный метод требует дальнейшего изучения и определения влияния его на продолжительность жизни онкобольных.

М.А. Каплан, В.С. Медведев, В.В. Польшкин, В.Н. Капинус, И.С. Спиченкова, А.М. Шубина
ФДТ С ПРЕПАРАТОМ ФОТОЛОН В САМОСТОЯТЕЛЬНОМ И КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА
ГУ МРНЦ РАМН, Обнинск

Введение. Лучевая терапия опухолей полости рта и ротоглотки до настоящего времени является наиболее часто применяемым, а у большинства больных – единственным методом лечения. Недостатками лучевой терапии являются сравнительно низкие показатели местного эффекта лечения и выраженные лучевые реакции. Хирургическое лечение рака слизистой оболочки полости рта также имеет недостатки, связанные с тем, что излечения, даже при относительно небольшом поражении, удается добиться при выполнении больших по объему, исключительно трудоемких оперативных вмешательств.

Цель исследования. Разработка методики и оценка эффективности ФДТ с применением препарата фотолон в самостоятельном и комплексном лечении больных плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта.

Материалы и методы. В клинике ГУ МРНЦ РАМН в период с 2004 по 2009 год 32 больным раком слизистой оболочки полости рта в возрасте от 28 до 81 года (мужчины – 20, женщины – 12) проведена ФДТ: у 16 исходно диагностирован рак языка, у 9 – рак дна полости рта, у 5 – рак слизистой оболочки щек и по 1 случаю – рак слизистой оболочки преддверия полости рта и альвеолярного отростка нижней

челюсти. У 21 больного опухоли были рецидивными или остаточными после комбинированного или комплексного лечения (дистанционная лучевая терапия, полихимиотерапия, оперативное вмешательство). В качестве фотосенсибилизаторов использовался препарат фотолон (0,9-2,0 мг/кг). ФДТ проводилась на лазерных терапевтических установках «Аткус-2» и «Латус» с выходной мощностью от 0,4 до 2,0 Вт. К экзофитным и эрозивным опухолевым образованиям подводилась световая энергия от 200 до 400 Дж/см² дистанционно с помощью световодов с микролинзами, а при наличии инфильтрации подлежащих тканей проводилось дополнительное контактное облучение с помощью специальных контактных линз в световой дозе 200 до 600 Дж/см². Количество сеансов ФДТ варьировало от 1 до 3 в зависимости от клинической ситуации. Проведено 48 сеансов ФДТ. Непосредственные результаты оценивались через 2 мес. после проведения ФДТ.

Результаты. Полная регрессия опухоли была отмечена у 24 больных (75%), частичная регрессия – у 5 больных (15,6%), стабилизация – у 3 (9,4%). Таким образом, объективный противоопухолевый эффект (ПР+ЧР) составил 90,6 %. Сроки наблюдения за больными составили от 2 до 44 мес. В различные сроки наблюдения рецидив первичной опухоли отмечен у 7 (21,9%) больных. Пациентам с частичной регрессией и стабилизацией опухоли проводились повторные сеансы ФДТ, что позволило продлить им жизнь, стабилизировать процесс и улучшить качество жизни.

Выводы. ФДТ с препаратом фотолон может быть эффективно применена у больных раком слизистой оболочки полости рта в самостоятельном и комплексных планах лечения с первичными и рецидивными опухолями с хорошими функциональными и косметическими результатами.

С.Н. Курченко, М.Г. Дудин, Г.И. Нетелько, Е.А. Мазуркевич, А.А. Шапко, В.В. Ашмаров, Г.В. Пономарев
ПРИМЕНЕНИЕ ФДТ С ПРЕПАРАТОМ ФОТОДИТАЗИН ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ДЕГЕНЕРАТИВНО-ДИСТРОФИЧЕСКИХ И ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ОПОРНОДВИГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ
СПб ГУЗ ВЦДОиТ ОГОНЕК, Санкт-Петербург
ФГУ РосНИИТО им. Р.Р. Вредена, Санкт-Петербург
ООО ВЕТА-ГРАНД, МОСКВА

Введение. Фотодинамическая терапия известна с 1970-х гг. и уже завоевала свой авторитет в ряде медицинских дисциплин. Одним из главных механизмов действия ФДТ является фотоиндуцированная диссоциация – фотосенсибилизаторы образуют синглетный кислород, образуя гидроксилрадикалы, которые реагируют с органическими молекулами, и поэтому могут вызывать гибель клетки. Это явление используется в фотодинамической терапии рака.

Благодаря применению фотосенсибилизатора, который хорошо накапливается в патологических клетках, можно селективно разрушать эти клетки в здоровой ткани после определенного времени накопления, причем здоровая ткань остается неповрежденной. Этот эффект можно использовать не только для лечения онкологической патологии, но и при заболеваниях, сопровождающихся локальной тканевой гипоксией.

В патогенезе многих дегенеративно-дистрофических заболеваний опорно-двигательного аппарата лежит нарушение локального кровообращения, что непременно вызывает гипоксию и костной и окружающих мягких тканей. Все вышеизложенное дало основание для применения ФДТ в ортопедии и травматологии.

Материалы и методы. Среди не очень широкого спектра препаратов (фотосенсибилизаторов) наше внимание привлек отечественный препарат фотодитазин, который имеет целый ряд преимуществ, а именно: фотодитазин – полученный путем химической модификации метилфеофорбида – обладает мощной полосой поглощения в длинноволновой красной области спектра (λ 662 нм), где биоткани характеризуются большим пропусканием и флюоресценцией, прекрасно растворяется в воде, не образуя агрегированных форм.

Фотодитазин быстро накапливается в очагах поражения (не более 2 ч) и быстро выводится из организма, что не требует ограничения светового режима и не вызывает фотохимических осложнений. Есть все основания использовать данный препарат у детей и подростков.

Мы не ставили задачу сравнивать его с другими препаратами, так как нас он полностью устраивает, в том числе – по цене и эффективности.

Для правильного обоснования возможности применения данного метода в лечении воспалительных и дегенеративно-дистрофических заболеваний суставов у детей и подростков в экспериментальной лаборатории ФГУ РОСНИИТО им. Р.Р. Вредена под руководством д.н.н., проф. Г.И. Нетелько была проведена серия экспериментальных исследований на беспородных мышках различного возраста. В результате были получены следующие данные: гель фотодитазин максимально накапливается во всех тканях сустава (капсула, гиалиновый хрящ, ростковая зона) через 120 минут после нанесения.

Результаты. С середины 2006 г., в сотрудничестве с ООО «ВЕТА-ГРАНД» мы спровели большую группу пациентов и получили удовлетворяющие нас результаты.

В группу вошли пациенты с дегенеративно-дистрофическими и воспалительными заболеваниями ОДА различных локализаций и степени тяжести: идиопатический и посттравматический асептический некроз головки бедренной кости, диспластический коксартроз, остеохондропатии бугристости большеберцовой и пяточной костей, остеохондропатия апофизов тел позвонков, ювенильный идиопатический артрит, ревматоидный артрит. Все эти заболевания объединяют основные патогенетические процессы: нарушение локального кровообращения, гипоксия, нарушение кислотно-щелочного и электролитного балансов, что в клинической картине проявляется болевым синдромом, нарушением функции суставов, дистрофией и, учитывая особенности жизнедеятельности костной ткани, эти заболевания протекают длительно от одного до трех лет. Всем пациентам до начала ФДТ проводили: сбор жалоб и анамнеза, клинический осмотр, развернутый анализ крови, ультразвуковое и рентгенологическое исследования, термографию области поражения.

В работе мы использовали: Лазерный аппарат АТКУС-2 λ 662 нм, мощность излучения 0,1–2 Вт., компьютерный тепловизионный комплекс Радуга М, УЗИ– диагностику, рентгенодиагностику.

Пациентам проводилась одна процедура фотодинамической терапии с препаратом фотодитазин на гелевой основе.

Учитывая возрастную контингент и непереносимое требование детской ортопедии – неинвазивность гель фотодитазин наносился на кожу в области поражения из расчета 0,1 мл на 1 см², через 2 ч остатки препарата тщательно удалялись с кожных покровов теплой водой и проводилось облучение области лазерным излучением красного диапазона в непрерывном режиме с дозировкой 70–150 Дж/см².

Оценка эффективности лечения осуществлялась по результатам клинического, тепловизионного и ультразвукового исследований. Оказалось, что температура над зоной поражения нормализуется, исчезают при-

знаки асептического воспаления, купируется болевой синдром, увеличивается объем безболезненных движений в суставах.

Заключение. Наблюдение в течение 2 лет за пациентами, которым проводилась ФДТ, позволяет говорить о высокой эффективности предложенного нами метода лечения у данной категории больных.

Е.В. Лихачева¹, Ю.В. Алексеев¹, Е.М. Борисова¹, Г.В. Пономарев², А.Р. Евстигнеев¹

ФДТ НЕОПУХОЛЕВЫХ ЛОР-ЗАБОЛЕВАНИЙ С ПРИМЕНЕНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКОВ ИЗЛУЧЕНИЯ

¹ФГУ ГНЦ ЛМ Росздрава, Москва

²ГУ НИИ БМХ РАМН, Москва

Целью данной работы является расширение возможностей фотодинамической терапии в амбулаторной оториноларингологии путем использования разных источников излучения.

В качестве фотосенсибилизатора применялся гель фотодитазина 0,35% (препарат хлоринового ряда), удобный для местного аппликационного использования на слизистых оболочках и коже, а также обладающий широким спектром поглощения света с излучением разных λ .

В качестве источников света применялись следующие аппараты:

1. Традиционно используемый лазерный аппарат «Милон-Лахта» (λ 665 нм), с мощностью излучения до 1 Вт на выходе световода.
2. Источник некогерентного света в синем диапазоне с λ 305–495 нм (с пиком 405 нм).
3. Лазерный аппарат «Утро» для фотодинамической терапии (производства г. Калуга), обладающий следующими параметрами: мощность на выходе 100 мВт; λ 661 нм, работающий в непрерывном режиме.

Аппарат отличается малыми габаритами (длина до 20 см) автономного питания (перезаряжаемые аккумуляторы), простотой управления (одна кнопка), что оптимально для применения в амбулаторных условиях. Также в комплекс с данным источником излучения можно применять любые универсальные терапевтические насадки, что позволяет доставлять излучение прецизионно к облучаемой поверхности.

Под наблюдением находились пациенты, получающие лечение, со следующими диагнозами: хронические риниты и риносинусопатии (включая пациентов, в анамнезе перенесших радикальную гайморотомию), хронические фарингиты, тонзиллиты, хронические наружные и средние отиты.

Применяя разные источники излучения, мы получили положительные клинически сравнимые между собой результаты, на основании чего можно сделать следующие выводы:

Использование когерентного и некогерентного излучения в спектре поглощения препарата хлоринового ряда (фотодитазина 0,35%) позволяет более широко внедрять фотодинамическую терапию при неопухолевых ЛОР-заболеваниях.

В дальнейшем планируется изучить особенности каждого из вариантов ФДТ с применением разных источников света.

Учитывая малые габариты, простоту в использовании, доступную цену, можно рекомендовать лазерный терапевтический прибор «Утро» в амбулаторно-клинической службе при лечении неопухолевых заболеваний.

Г.А. Меерович¹, И.Г. Меерович², А.К. Волков³,
М.А. Грин⁴, В.М. Деркачева³, В.И. Поздеев⁴, А.Г. Ци-
провский⁴, В.М. Негримовский³, С.В. Барканова³,
Л.М. Борисова², З.С. Смирнова², Н.А. Оборотова²,
Е.А. Лукьянец³, В.Б. Лоценов¹, А.Ф. Миронов⁴, Г.Н.
Ворожцов³, А.Ю. Барышников²

НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ БЛИЗНЕГО ИНФРАКРАСНОГО ДИАПАЗОНА

¹ИОФ РАН ИМ. А.М. ПРОХОРОВА, МОСКВА

²ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

³ФГУП ГНЦ НИОПИК, Москва

⁴МИТХТ им. М.В. Ломоносова, Москва

Материалы и методы. Исследования проводились на гидрофобных фенилтио- и алкилтио-производных фталоцианинов: тетра-3-фенилтиофталоцианине алюминия гидроксида (тиосенс) и окта-4,5-децилтио-окта-3,6-хлорофталоцианине цинка (октасенс) с поглощением в спектральном диапазоне 715-740 нм, производных N-алкоксициклоимидов бактериохлорина р, поглощающих в диапазоне 790-800 нм. Для введения ФС *in vivo* были созданы наноструктурированные (липосомальные и мицеллярные) инъекционные формы. Тиосенс вводился в виде липосомальной дисперсии с активным веществом, введенным в липидный бислой (размер липосом 100-150 нм), Октасенс – в виде мицеллярной дисперсии на основе Эмукола (размер везикул 180-215 нм), производное алкоксициклоимида бактериохлорина р – в виде мицеллярных дисперсий на основе кремфора (размер везикул 12-15 нм), липосомальной дисперсии с активным веществом, введенным в липидный бислой (размер липосом 130-190 нм), мицеллярной дисперсии на основе эмукола (размер везикул 180-260 нм).

Для всех фотосенсибилизаторов изучались наноструктурные параметры, спектры поглощения и флуоресценции *in vivo*, динамика уровня и селективности накопления активного вещества в опухоли и его выведения из нормальной ткани, эффективность ФДТ.

Для исследования *in vivo* фотосенсибилизаторы вводились мышам F1 с опухолью Эрлиха и мышам BDF1 с меланомой В16, внутримышечно перевитыми соответственно за 4 и 7 дней до введения препаратов.

Результаты и обсуждение. Фотосенсибилизаторы эффективно и селективно накапливаются в опухоли по сравнению с нормальной тканью. Индекс селективности накопления тиосенса превышает 4,5:1, Октасенса достигает 7:1, эфира оксима алкоксициклоимидов бактериохлорина р – 6:1. В нормальной ткани содержание тиосенса и октасенса уменьшается до предела обнаружения за 5-7 дней, а эфира оксима алкоксициклоимидов бактериохлорина р – менее чем за 8 ч. ФДТ опухоли Эрлиха с использованием липосомальной Тиосенса в дозе 6 мг/кг (облучение через 4-5 часов после введения с плотностью мощности 400 мВт/см² в течение 20 мин) и с использованием мицеллярной дисперсии Октасенса в дозе 2 мг/кг (облучение с плотностью мощности 150 мВт/см² в течение 20 мин) вызывает эффективное торможение роста опухоли, индекс ТРО достигает 80%. При ФДТ меланомы В16 с использованием производного алкоксициклоимида бактериохлорина р в дозе до 1 мг/кг (облучение с плотностью мощности 200 Вт/см² в течение 20 мин) индекс ТРО достигал 91%, увеличение продолжительности жизни животных – 61%.

Выводы. Предложенные новые эффективные наноструктурированные фотосенсибилизаторы на основе фенилтио- и алкилтиопроизводных фталоцианинов и производного N-алкоксициклоимида бактериохлорина р характеризуются высокой селективностью накопления и избирательностью действия, быстрым выведением из нормальной ткани и высокой эффективностью при ФДТ опухолей больших размеров, включая меланому.

Работа по производным фталоцианинов выполнена при финансовой поддержке Правительства Москвы. Работа по производным бактериохлорина поддержана грантом РФФИ 07-03-00452-а.

Работа к.б.н. Мееровича И.Г. поддержана грантом Президента РФ МК-4675.2008.4.

И.Г. Меерович¹, Л.Р. Арсланбаева¹, Д.В. Соколова²,
О.С. Бузова², Н.В. Андропова², А.Ю. Барышников²,
А.П. Савицкий¹

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОФЕНОТИПА ФЛЮОРЕСЦИРУЮЩИХ КЛЕТОК

MEL KOR-TURBO-RFP IN VITRO И IN VIVO.

¹ИБ им. А.Н. Баха РАН, Москва

²НИИ ЭДитО РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН, Москва

Флуоресцирующая клеточная линия mel Kor-Turbo-RFP создана для прижизненного *in vivo* мониторинга роста опухоли у лабораторных животных. Показано, что она обладает стабильными культуральными и морфологическими характеристиками, по скорости роста *in vitro* и *in vivo* и ряду других свойств адекватно отражает свойства исходной клеточной линии меланомы человека mel Kor.

Исходная клеточная линия характеризуется экспрессией меланомных (дифференцировочных), опухолеассоциированных маркеров и отсутствием антигенов гистосовместимости первого и второго класса.

Представляется важным подтвердить, что новое по сравнению с исходной клеточной линией свойство клеток клеточной линии mel Kor-Turbo-RFP экспрессировать красный флуоресцирующий белок не повлияло на иммунофенотип клеток. Кроме того, информация об антигенах, презентированных на поверхности клеток mel Kor-Turbo-RFP необходима для случаев, когда на флуоресцирующей модели опухоли животных предполагается исследовать противоопухолевое действие препаратов, основанных на антителах к этим антигенам, либо когда другие препараты планируется доставлять к опухоли при помощи антитело-опосредованного направленного транспорта (конъюгаты препаратов с антителами, иммунолипосомы и т.д.)

Имунофенотип клеток линии mel Kor-Turbo-RFP до инокуляции мышам, а также клеток выросшей опухоли определяли при помощи проточной цитофлуориметрии. При проведении анализа использовали реакции прямой и непрямой иммунофлуоресценции. Проводили также ИГХ-исследования срезов опухоли.

Полученные результаты показывают, что клетки mel Kor-Turbo-RFP характеризуются экспрессией меланомного клеточного маркера CD63, подчеркивающего специфичность данной клеточной линии, и отсутствием антигенов гистосовместимости I и II классов.

Таким образом, клеточная линия mel Kor-Turbo-RFP по исследованным маркерам сохранила иммунофенотип по сравнению с исходной меланомой mel Kor.

В.М. Моисеенко, М.Л. Гельфонд, И.А. Балдуева,
Т.Л. Нехаева, А.В. Новик, О.Л. Фахрутдинова,
А.О. Данилов, А.Б. Данилова

ЛЕЧЕНИЕ ДИССЕМИНИРОВАННОЙ МЕЛАНОМЫ ВАКЦИНОЙ НА ОСНОВЕ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК, АКТИВИРОВАННЫХ ОПУХОЛЕВЫМИ КЛЕТКАМИ В СОСТОЯНИИ ФОТОИНДУЦИРОВАННОГО ФОТОДИТАЗИНОМ АПОПТОЗА

ФГУ НИИО ИМ. Н.Н. ПЕТРОВА, САНКТ-ПЕТЕРБУРГ

Введение. По современным научным представлениям, угнетение противоопухолевого иммунного надзора связано с нарушением функции периферических дендритных клеток.

Это обусловлено снижением экспрессии главного комплекса гистосовместимости, ответственного за презентацию антигенов и молекул CD80 и CD86, стимулирующих активность Т-лимфоцитов. Следовательно, дефекты противоопухолевого иммунитета могут быть преодолены успешной презентацией опухолюассоциированных антигенов. Известен способ нагрузки моноцитарных дендритных клеток апоптотическими опухолевыми клетками *ex vivo*, который позволяет наблюдать до 15 % эффективных ответов (Qian K., Wang Y., Shi H. et al., 2007; Dhodapkar M.V. et al., 2008).

Существует способ иммунотерапии плоскоклеточного рака у экспериментальных животных с помощью опухолевых клеток в состоянии фотоиндуцированного апоптоза, тормозящий развитие опухоли у большинства вакцинированных животных (Korbelik M. et al., 2007). Реализуются как локальные, так и системные иммунные реакции, приводящие к элиминации опухолевых клеток при введении наивных дендритных клеток в опухоль, подвергнутую ФДТ (Saji H. et al., 2006).

В НИИ онкологии им. Н.Н.Петрова реализована методика лечения диссеминированной меланомы с помощью дендритных клеток, активированных клетками опухоли в состоянии фотоиндуцированного апоптоза.

Материалы и методы. В исследование включено 5 больных с гистологически верифицированным диагнозом диссеминированной меланомы кожи, ранее получивших хирургическое лечение. Средний возраст 49,8 лет (от 30 до 59). Мужчин 2, женщин 3. Предшествующее лечение получали 4 больных, из них 2 была проведена только иммунотерапия, 2 пациентов получали химиотерапию/иммунотерапию, дополненные локальными методами (ИРП, ЛТ) контроля.

После 5-дневной стимуляции выхода стволовых CD34⁺-гемопоэтических клеток из костного мозга в периферическую кровь с помощью Г-КСФ проводился их аферез на сепараторе клеток крови «Coba Spectra». Полученные СКПК культивировались в присутствии ГМ-КСФ в течение 5 дней.

Функциональная зрелость с иммунофенотипом CD11c⁺CD1a⁺HLA DR⁺CD14⁺CD19⁺CD3⁺CD56⁺. Через 2 ч после внутривенного введения фотодитазина проводилась интратестикулярная ФДТ опухоли (доза света 100–120 Дж). Через 6 ч после ФДТ полученные «наивные» дендритные клетки вводились в центр опухоли, по ее периферии и эндолимфатически. Первые 5 вакцинаций проводились ежедневно, последующие – с интервалом в 21 день.

Результаты. Вакцинотерапия сопровождалась как типичными для ФДТ местными проявлениями, так и системными реакциями в виде лихорадки 1 ст, реактивной гиперплазии регионарных лимфатических узлов. Все явления носили преходящий характер и не требовали лечения. Оценка эффективности проводилась по критериям RECIST.

Стабилизация процесса (длительность 28 недель и 6+) достигнута у 2 пациенток. У обеих отмечен незначительный регресс имеющихся мягкотканых метастазов и пораженных лимфатических узлов, в т.ч. у одной полностью купирован болевой синдром 2 ст.

Прогрессирование процесса зарегистрировано у 3 больных. У двоих изначально имелся большой объем опухолевой массы, а у одной пациентки на фоне полного регресса мягкотканых метастазов и частичного регресса периферических лимфоузлов диагностировано поражение твердой мозговой оболочки СМ.

Системный цитотоксический эффект был подтвержден эксцизионной биопсией отдаленных метастазов. ИГХ-исследование выявило лимфогистиоцитарную инфильтрацию стромы при полном отсутствии опухолевых клеток

Выводы. Специфическая иммунотерапия на основе дендритных клеток, нагруженных *in vivo* опухолевыми клетками в состоянии фотоиндуцированного апоптоза, приводит к индукции системного и локального противоопухолевого ответа.

Н.Б. Морозова, Т.Н. Андреева, Р.И. Якубовская, В.И. Чиссов

СРАВНЕНИЕ ОФИЦИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ФДТ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VIVO* ФГУ МНИИ им. П.А. ГЕРЦЕНА, МОСКВА

Цель исследования. Сравнительный анализ эффективности официальных фотосенсибилизаторов.

Материалы и методы. Фотосенсибилизаторы: фотогем, радахлорин и фотосенс. Животные: интактные мыши и мыши с опухолью LLC. Методики: биораспределение оценивали методом локальной флюоресцентной спектроскопии. ФДТ проводили на 7-й день роста опухоли; использовали светодиодные источники облучения с $\lambda_{\max}$ 640 нм (фотогем), 660 нм (радахлорин) и 670 нм (фотосенс). Облучение проводили в «высокоинтенсивном» режиме (P_s – 80–100 мВт/см², P_w – 90 Дж/см²). Критерии оценки противоопухолевого эффекта ФДТ: торможение роста опухоли, увеличение продолжительности жизни и критерий излеченности.

Результаты. Показано, что фотогем и фотосенс более длительно циркулируют в организме животных, чем радахлорин. В коже фотогем и фотосенс определяются до 3 мес., а радахлорин – в течение 2 сут. Во внутренних органах (печень, почки, селезенка и др.) фотогем и фотосенс регистрируется до 6 мес., радахлорин до 5 сут. Максимальные значения флюоресценции ФС в опухоли LLC зафиксированы на различные сроки после их введения: для радахлорина через 0,5–3 ч, для фотосенса – 0,25–24 ч., для фотогема – 4–24 ч. Максимальная флюоресцентная контрастность для радахлорина регистрируется в интервале 1–48 ч, для фотосенса – 0,25–72 ч, для фотогема – 4–24 ч.

Изучение фотоиндуцированной противоопухолевой активности препаратов, проведенное в мультипараметрической системе (учет дозы препарата, интервала между его введением и облучением (t), а также дозы света) выявило диапазоны максимально эффективных режимов и доз ФДТ. При высокоинтенсивном режиме облучения (P_w – 90 Дж/см²) для радахлорина наиболее эффективны дозы 5–7,5 мг/кг, t 0,25–0,5 ч; для фотосенса – дозы 2–5 мг/кг, t 0,25–24 ч; для фотогема – дозы 25–35 мг/кг, t 1–24 ч. При этом в течение 14 ч наблюдалось высокое ТРО для всех ФС: от 53 до 100 %; для радахлорина и фотосенса при определенных режимах ФДТ УПЖ может достигать 91 и 47 %, КИ – 67 и 20 % соответственно.

Выводы. Наиболее длительно в организме животных циркулируют фотосенс и фотогем, а радахлорин выводится быстрее.

Максимальные значения ФК регистрируются для фотогема и радахлорина. Противоопухолевая активность существенно зависит от доз фотосенсибилизаторов и режимов облучения.

Отдельнова О.Б., Гельфонд М.Л., Хашукова А.З., Рылков В.В., Маслов В.Г.

ПРЕДКЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА И ИСТОЧНИКА СВЕТА ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ ФДТ

НИИО им. Н.Н.ПЕТРОВА, САНКТ-ПЕТЕРБУРГ

ГОИ, Санкт-Петербург; ГОУ ВПО РГМУ, кафедра акушерства и гинекологии лечебного факультета, Москва

Учитывая все более активное внедрение в клиническую практику ФДТ, весьма актуальными остаются выбор фотосенсибилизатора и источников света.

Материал и методика. Для быстрой и объективной оценки фототоксических свойств фотодитазина (производного хлорина Е6) были проведены эксперименты на культурах клеток и на 800 белых мышах линии NMRI.

Учитывая ограниченность информации по действию полихромных источников света на биообъекты, было изучено влияние света от полихромного источника (газоразрядной лампы) различного спектрального состава на несенсибилизированные культуры клеток костного мозга здоровых доноров и больных хроническим миелолейкозом (1 диапазон 620–780 нм, 2 диапазон 440–780 нм, 3 диапазон 390–780 нм).

Результаты. Эксперименты с культурой клеток миеломы мыши позволили установить нетоксичную дозу фотосенсибилизатора, которая даже при длительной инкубации не приводит к развитию темновой фототоксичности.

Исследование сравнительной эффективности фотодинамического действия света различных спектральных диапазонов показало, что наибольшим биостимулирующим эффектом с зависимостью результата от подведенной дозы света отличался красный диапазон спектра. При воздействии на пролиферирующие клетки монохроматического света в красном диапазоне спектра существует два независимых эффекта: процесс стимуляции опухолевого роста во время абсорбции света эндогенными хроматоформами и процесс супрессии опухолевого роста при фотосенсибилизированных процессах.

Помимо прямого фототоксического действия фотосенсибилизатора на пролиферирующие клетки, а также повреждения эндотелия кровеносных сосудов с последующим их тромбозом, для фотодинамической терапии присущ еще один эффект, а именно иммунологический ответ организма на фотоповреждение клеток и тканей. В эксперименте на животных во всех случаях опухоли на обеих лапах реагировали синхронно. Таким образом, понятно, что наблюдаемые эффекты не могут быть объяснены только первыми двумя механизмами ФДТ. Становится очевидной фотосенсибилизированная стимуляция иммунных реакций, что можно связать, как с фотомодификацией иммунокомпетентных клеток крови во время облучения опухоли, так, очевидно, и с фотоиндуцированной экспрессией на поверхности клеток опухолевых ассоциированных антигенов. Презентация этих антигенов костномозговым дендритным клеткам приводит к продукции лейкоцитами фактора некроза опухоли и возрастанию киллерной активности лимфоцитов.

А.Д. Плутинская, Т.А. Кармакова, Р.И. Якубовская
СРАВНЕНИЕ ФОТОИНДУЦИРОВАННОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТОВ ФОТОСЕНС, ФОТОГЕМ И РАДАХЛОРИН В СИСТЕМЕ *IN VITRO*

МНИОИ ИМ. П.А. ГЕРЦЕНА, МОСКВА

Цель исследования. Сравнительная оценка фотоиндуцированной активности препаратов фотосенс, фотогем и радахлорин в системе *in vitro*.

Разработанные нами методические подходы позволили оценивать эффективность фотосенсибилизаторов различных классов при фотодинамическом воздействии с учетом разнообразных факторов: природы опухолевых клеток человека (эпидермоидной карциномы гортаноглотки НЕР2, аденокарциномы легкого А549 и карциномы толстой кишки НТ29), их посевной концентрации (от 20 000 кл/мл до 150 000 кл/мл), концентрации препарата (от 0,25 мкг/мл до 8 мкг/мл), длительности инкубации клеток с фотосенсибилизатором до воздействия (от 30 мин до 4 ч), наличие или отсутствие красителя в среде во время облучения и т.д.

Оптимальным критерием оценки фототоксического эффекта *in vitro* были выбраны величины ИК₅₀ и ИК₉₀ – концентрации фотосенсибилизатора, при которых, соответственно, наблюдаются 50 и 90 % гибели опухолевых клеток.

Исследования показали, что высокий фототоксический эффект достигается для всех изученных фотосенсибилизаторов, независимо от природы опухолевых клеток. Однако он снижается с увеличением количества клеток в монослое. В экспериментах со сменой среды до облучения показано, что фотосенс и радахлорин более эффективно накапливаются в клетках, чем фотогем. При ФДВ с радахлорином и фотосенсом максимальный фототоксический эффект достигается через 2 ч инкубации клеток с фотосенсибилизатором, в то время как при ФДВ с препаратом фотогем – через 4 ч.

В условиях максимального накопления радахлорина эффективность ФДВ была сопоставима в отношении клеточных культур НЕР2, А549 и НТ29 (величина ИК₅₀ составила 5,3 1,2 мкг/мл, 6,0 1,5 мкг/мл и 7,1 1,7 мкг/мл соответственно). Фототоксичность фотосенса и фотогема в отношении исследованных клеточных линий варьировала. Так, клетки НЕР2 были наиболее чувствительны к ФДВ с фотосенсом и фотогемом (величина ИК₅₀ – 2 0,9 мкг/мл и 8,1 1,3 мкг/мл соответственно), менее чувствительны были клетки А549 (5,8 2,8 мкг/мл и 13,8 1,1 мкг/мл соответственно) и наименее чувствительными оказались клетки НТ29 (19,5 2,5 мкг/мл и 28,2 2,5 мкг/мл соответственно).

Таким образом, адекватное сравнение фотоактивности красителей *in vitro* требует комплексного подхода с учетом возможных различий в кинетике накопления фотосенсибилизаторов в различных клеточных структурах и в чувствительности клеток различного гистогенеза к ФДВ.

П.Б. Попов

ВОЗМОЖНОСТИ ФДТ РАКА КОЖИ ВЕК С ПРЕПАРАТОМ ФОТОДИТАЗИН

ФГУ «Южный окружной медицинский центр»,
Клиника лазерной и фотодинамической терапии
Северокавказского противоракового фонда, Краснодар

Введение. Применение хирургического и лучевого лечения при поражении кожи век злокачественными новообразованиями ограничено из-за опасности развития выраженных анатомо-функциональных нарушений вплоть до потери зрения, и сопровождается ранними рецидивами или продолженным ростом опухоли. Использование фотодинамической терапии открывает возможность проводить радикальное лечение без снижения остроты зрения и с высоким косметическим результатом.

Материалы и методы. ФДТ была проведена 8 пациентам, страдающим раком кожи век, в возрасте 65–85 лет. Из них 6 с базальноклеточным раком, 1 – с плоскоклеточным, 1 – с узловой меланомой кожи. У 5 пациентов с базалиомой лечение проводилось по поводу рецидива после лучевого или хирургического лечения. Все опухоли морфологически верифицированы.

Фотосенсибилизатор фотодитазин вводился в/в болюсно 1–2 мг/кг, для возбуждения фотосенсибилизатора использовался лазер Аткус-2, λ 661 нм, плотность мощности 40–100 мВт/см², плотность энергии 100–150 Дж/см². Для подвода световой энергии использовались световоды оригинальной конструкции. Для защиты глазного яблока использовались оригинальные силиконовые контактные экраны, с нанесенным на них светоотражающим слоем. Результаты оценивались по критериям: полная регрессия, частичный эффект и без эффекта. В сложных для оценки случаях проводилась мультифокальная биопсия.

Результаты. Полной резорбции опухоли удалось добиться у всех больных. При сроках наблюдения от 1 года до 3 лет рецидивы выявлены только у 2 (25 %) больных с местнораспространенным базальноклеточным раком, которым ФДТ проводилась после безуспешного лучевого лечения. Этим пациентам были проведены повторные сеансы ФДТ с полным ответом.

У всех пролеченных больных отмечается высокое косметическое качество рубцов и сохранность остроты зрения на значениях не ниже исходного уровня.

Выводы. ФДТ фотодитазинном может рассматриваться как метод выбора при лечении злокачественных новообразований кожи век, так как сочетает в себе радикальность наряду с высокими функциональным и косметическим результатами.

П.Б. Попов

ОПТИМИЗАЦИЯ РЕЖИМОВ ПРОВЕДЕНИЯ ФДТ С ПРЕПАРАТОМ ФОТОДИТАЗИН ПРИ ЛЕЧЕНИИ

МЕСТНОРАСПОСТРАНЕННОГО РАКА КОЖИ

ФГУ «Южный окружной медицинский центр»,

Клиника лазерной и фотодинамической терапии

Северокавказского противоракового фонда, Краснодар

Введение. Эффективность фотодинамической терапии заметно ниже в тех случаях, если она проводится по поводу местнораспространенного рака кожи, особенно плоскоклеточного и меланоклеточного типов. Нам представляется возможным увеличить процент полных регрессий и снизить число ранних рецидивов за счет оптимизации светового воздействия на опухоль и режима фотосенсибилизации.

Материалы и методы. ФДТ была проведена 5 пациентам с местнораспространенным раком кожи различной локализации и гистологической структуры. Площадь очагов составляла 100–170 см².

Фотодитазин вводился в/в болюсно 1–2 мг/кг или в/а 0,8мг/кг, облучение лазером Аткус-2 интерстициально оригинальными световодами с полимерными и сапфировыми диффузорами, плотность мощности не превышала 200 мВт на 1 см длины цилиндрического диффузора, плотность энергии 100–130 Дж/см² границы раздела опухоль/здоровая ткань. Для снижения светопотерь использовались оригинальные светоотражающие экраны.

Результаты. В большинстве работ плотность энергии лазерного излучения на очаг составляет 300–600 Дж/см². Причина, по которой используются такие высокие значения световой энергии, кроется в больших потерях с альбедо при дистантном облучении и недостаточная пенетрантность при поражении субдермальных структур, особенно при наличии пигмента в опухоли. Мы сознательно отказались от этих режимов, так как при 2 Вт выходной мощности, для достижения плотности энергии 300–600 Дж/см², очаг площадью 170 см² требует уже 7–14 ч облучения, что совершенно неприемлемо. Использование интерстициального облучения решает сразу проблему потерь на отражение-поглощение и проблему пенетрации, так как свет непосредственно подводится к границе опухоли/здоровая ткань. Накрывая опухоль светоотражающим экраном, потерями света вообще можно пренебречь.

Тем самым расчет световой дозы можно проводить, пользуясь простой формулой:

$$E = K_p \times S,$$

где E – суммарная энергия, которую нужно подвести к очагу, Дж

S – площадь границы опухоли/здоровая ткань, см²

K_p – плотность энергии, необходимая до полного выгорания фотосенсибилизатора, Дж/см² (для фотодитазина составляет по результатам спектрофлюоресцентных исследований 80–100 Дж/см²).

Переносимость болюсного введения была хорошей, наблюдались преходящие парестезии в дисталь-

ной части конечности при в/а введении. Накопление препарата в опухоли было выше, чем при в/в кап. введении. Полная регрессия опухоли наблюдалась у всех больных. Время экспозиции самого большого очага (170 см²), не превысило 3 ч. Рецидивы наблюдались в сроки от 6 до 11 мес. Следует отметить, что рецидивные очаги были небольшого размера. Для их ликвидации использовалась лазерная деструкция или ЭХЛ, а в некоторых случаях ФДТ. Резистентности к повторной ФДТ не наблюдалось.

Выводы. Методика оптимизации доставки лазерного излучения оказалась высокоэффективной при терапии местнораспространенного рака кожи всех гистологических типов, включая меланоклеточный. Применение данной методики более чем в 2 раза снижает временные затраты на проведение ФДТ и экономит эксплуатационный ресурс лазерной техники. Болюсное внутривенное и внутриартериальное введение в использованных режимах хорошо переносится пациентами и способствует более высокому накоплению фотосенсибилизатора в опухоли.

В.А. Пурихванидзе, А.В. Бабаджаниди, А.А. Радаев ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ КАБИНЕТА И РОЛЬ МЕТОДА ФДТ ПРИ ЛЕЧЕНИИ РАКА КОЖИ В УСЛОВИЯХ ГОРОДСКОЙ ПОЛИКЛИНИКИ

ГП № 84 УЗ ЮЗАО, Москвы

В настоящее время в России и зарубежом рак кожи является одной из наиболее распространенных форм рака. Во всем мире доля больных раком кожи среди всех больных, лечащихся с применением ФДТ, доходит до 70 %, а терапевтическая эффективность ФДТ при данной локализации достигает 100 %. Кроме этого бесспорна роль ФДТ как полноценного альтернативного метода в лечении базальноклеточного и плоскоклеточного рака кожи «неудобных локализаций» на лице, в периорбитальной области, ушных раковинах, волосистой части головы, а также при множественных очагах. Тем не менее, традиционными методами лечения рака кожи все еще остаются хирургическое иссечение и близкофокусная рентгенотерапия, а сам метод ФДТ до сих пор является прерогативой крупных онкологических научных центров и стационаров.

Нами в условиях городской поликлиники организован кабинет высокотехнологических методов лечения и накоплен опыт применения ФДТ в амбулаторном лечении больных базально-клеточным, плоскоклеточным и метатипическим раком кожи. Изменяя физико-химические параметры ФДТ (тип и дозу фотосенсибилизатора, лекарственно-световой интервал, плотность световой мощности и плотность световой энергии), нам удалось разработать оптимизированные протоколы ФДТ, позволяющие повысить ее эффективность при некоторых локализациях рака кожи до 100%. ФДТ применялась у 157 больных первичным раком кожи, из которых у 135 отмечались «неудобные локализации» (на веках или в периорбитальных областях, на носу, в области носогубных складок, на ушных раковинах и на коже наружного слухового прохода), а у 22 – множественные очаги и обширные поражения (размер очага более 7 см в Ø). При этом использовались фотосенсибилизаторы 2 поколения – производные хлорина Е6: радахлорин (ООО «Рада-Фарма», Россия) и фотолон (ОАО «Белмедпрепараты», Белоруссия).

По сравнению с фотосенсибилизаторами первого поколения (фотофрин II, фотогем, фотосан, НрD) они имеют целый ряд преимуществ: большую длину возбуждающего света (662 нм против 630 нм), больший коэффициент контрастности (10–15 против 1,5–2,0), определяющий селективность накопления в опухоли, и больший квантовый выход синглетного кислорода.

Доза радахлорина составляла 0,4–0,6 мг/кг, ЛСИ – 3 ч, доза подводимой световой энергии – от 50 до 300 Дж/см². Доза фотолон – 1,0–1,5 мг/кг, ЛСИ – 3 ч, доза подводимой световой энергии – от 50 до 300 Дж/см². Для облучения опухолей использовали полупроводниковый лазер «Милон» λ 662 нм, работающий в непрерывном режиме излучения. Эффективность лечения оценивали по критериям ВОЗ. Терапевтический эффект был получен у всех пролеченных пациентов. При ФДТ с радахлорином из 131 случая полная резорбция опухоли наблюдалась в 129 (98,5 %), частичная резорбция – у 2 больных (1,5 %). При ФДТ с фотолоном из 26 наблюдений полная резорбция опухоли наблюдалась у 23 (88,5 %), частичная резорбция – у 3 больных (11,5 %). Однако при ФДТ с фотолоном наблюдались более глубокие некрозы опухолевых масс и окружающих опухоль здоровых тканей, что требовало более длительного времени для заживления дефекта. Осложнений не наблюдалось. Уменьшение плотности мощности приводило к безболезненной переносимости процедуры, быстрому заживлению дефекта и отличным косметическим результатам. Организация и функционирование кабинета ФДТ в системе муниципального поликлинического обслуживания населения обеспечивает быстрое, эффективное, экономичное и альтернативное лечение рака кожи. Лечение методом ФДТ назначается больным сразу после верификации заболевания, что обеспечивает более высокий процент их выздоровления. ФДТ выгодно отличается от других методов лечения благодаря сохранению коллагенового каркаса тканей и заживлению дефекта ткани после резорбции опухоли по типу репарации, а не рубцевания. Тем самым, ФДТ – органосохраняющий метод, обеспечивающий хорошие и отличные косметические результаты при лечении рака кожи, в особенности при «неудобных» локализациях.

Отсутствие побочных эффектов и осложнений после ФДТ обеспечивают сдвиги характер метода. При этом фотосенсибилизаторы хлориновой группы, благодаря быстрому накоплению в опухоли и короткому лекарственно-световому интервалу, позволяют сократить длительность лечения с нескольких суток до нескольких часов, что делает ФДТ рака кожи удобным и эффективным методом в амбулаторных условиях.

В.В. Рукавов, В.И. Чиссов, В.В. Соколов, Р.В. Ульянов, А.А. Теплов, Е.В. Филоненко

КЛИНИЧЕСКИЙ ОПЫТ АДЬЮВАНТНОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ПОВЕРХНОСТНОМ РАКЕ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ В РОССИИ

ФГУ «МНИОИ им. П.А.Герцена», Москва

Введение. ФДТ при раке мочевого пузыря с применением фотосенсибилизатора Photofrin II была разрешена в мировой клинической практике с 1993 г. В России ФДТ для лечения рака мочевого пузыря впервые провели в 1992 г. В ФГУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» АДТВ рака мочевого пузыря проводится с 1997 г.

Материалы и методы. На сегодняшний день АДТВ (после трансуретральной резекции) проводилась у 110 больных. В качестве фотосенсибилизаторов для ФДТ использовались фотогем (производное гематопопорфирина), фотосенс (сульфированный фталоцианин алюминия) и аласенс (5-аминолевулиновая кислота).

Результаты и выводы. Были проанализированы непосредственные, ближайшие и отдаленные результаты ФДТ в 3 группах больных с различной степенью риска развития рецидива. Частота рецидива рака мочевого пузыря после ТУР и АФДТ составила 13–37,5%, прогрессирование роста опухоли 0–2,7%. Проведен анализ эффективности АФДТ в различных группах больных в зависимости от типа использованных фотосенсибилизаторов.

Т.А. Савельева¹, А.А. Стратонников

ВОЗМОЖНОСТИ МУЛЬТИСПЕКТРАЛЬНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ОКСИГЕНАЦИИ

ИОФ им. А.М. ПРОХОРОВА РАН, МОСКВА

В процессе изучения распределения и временного мониторинга оксигенации необходима динамическая информация о пространственном распределении значений этого параметра для локализации диагностически важных областей. Мультиспектральный анализ изображения поверхности биоткани с помощью набора фильтров на характерных длинах волн позволяет количественно оценить пространственное распределение степени насыщения крови кислородом. В данной работе рассматриваются различные подходы к решению данной задачи, проводится анализ моделей процесса обратного диффузного рассеяния, определяется оптимальная ширина полосы пропускания фильтров и динамический диапазон АЦП фотоприемника. Приводятся предварительные результаты оценки пространственного распределения оксигенации.

О.А. Скугарева, М.А. Каплан, А.И. Малыгина, А.А. Михайловская

ОЦЕНКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ НА МОДЕЛИ САРКОМЫ М-1 У КРЫС

ГУ МРНЦ РАМН, Обнинск

Введение. Интерстициальная ФДТ имеет большие перспективы применения. Она способствует более глубокому проникновению лазерного излучения и повышению эффективности разрушения опухоли.

Задачи исследования. Определение минимальных параметров (выходная мощность, время воздействия) для достижения оптимального эффекта воздействия, а также проведение термометрии тканей в процессе облучения опухоли.

Материалы и методы. Исследования проведены на самках беспородных крыс с перевитой подкожно в область бедра опухолью – саркомой М-1. В качестве фотосенсибилизатора использовали препарат хлоринового ряда фотолон в дозе 5 мг/кг (внутрибрюшинное введение). Источником излучения служили полупроводниковые лазерные аппараты «Латус 0,4» с λ 662 нм. Использовался световод с диффузором, длина активной части 1 см (изготовлен ООО «Полироник»), диффузор вводили вдоль наибольшего размера под основание опухоли. Измерение температуры проводили на диагностическом радиотермометре РТМ-01-РЭС с помощью ИК-датчика.

Эффективность лечения оценена по коэффициенту продолженного роста и проценту полной регрессии опухоли в сравнении с контрольной группой.

Результаты. Различным группам экспериментальных животных было проведено лечение при следующих условиях: 100 мВт (20 и 25 мин); 200 мВт (15; 20 и 25 мин); 300 мВт (10 и 15 мин). Результаты исследования показали, что при увеличении параметров воздействия растет процент полной регрессии опухолей.

При мощности облучения 100 мВт в группе исследуемых животных полная регрессия к концу срока наблюдения составила 82 % случаев при времени процедуры 25 мин. При 200 мВт, 25 мин % полной регрессии составил 87,5. В группе 300 мВт уже при облучении 15 мин полная регрессия была достигнута в 82 % случаев, однако наблюдались выраженные повреждения окружающих здоровых тканей.

Результаты термометрии показали, что увеличение мощности излучения приводит к росту температуры в зоне воздействия:

100 мВт – 35 °С; 200 мВт – 39 °С; 300 мВт – 45 °С.

Выводы. ИФДТ является эффективным методом при лечении саркомы М-1. Предпочтительно использование низкой мощности и достаточно длительного времени облучения. Увеличение мощности излучения приводит к повышению температуры в зоне лечения и к повреждению окружающих здоровых тканей.

З.С. Смирнова¹, Л.М. Борисова¹, М.П. Киселева¹,
Г.А. Меерович², Е.А. Лукьянец³, Г.Н. Ворожцов³
**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФДТ С ФОТОСЕНСОМ
РИ РАКЕ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
R3327 MATLYLU КРЫС**

¹ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

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

³ФГУП ГНЦ НИОПИК, Москва

Введение. РПЖ составляет 1,6% всех форм рака и относится к наиболее тяжелым онкологическим заболеваниям мужчин пожилого и старшего возраста. В последние годы отмечается рост заболеваемости. Правильное определение стадии процесса имеет решающее значение для выбора тактики лечения. Радикальное лечение (простатэктомия или лучевая терапия) возможно только при локальной форме РПЖ (T₁₋₂). Однако эти методы лечения вызывают тяжелые осложнения (импотенцию, недержание мочи, повреждение окружающих органов).

Альтернативным методом лечения локальной формы и рецидива РПЖ после ЛТ является ФДТ, которая вызывает значительно меньше побочных эффектов и уже применяется в клинической практике с фотосенсибилизаторами тукад, лотрин и фоскан.

Материалы и методы. Исследования проводились на крысах-самцах линии Copenhagen, массой 250 г. РПЖ R3327 MatLyLu перевивали ортотопически по 500 10³ опухолевых клеток в 5 мкл среды RPMI-1640. Фотосенс вводили в хвостовую вену в дозе 2 мг/кг на 6 день после перевивки. Интраоперационное внутритканевое лазерное облучение проводили на 7 день опыта с использованием лазера ЛФТ-630/670-01-БИОСПЕК.

Результаты. Показано, что на 7 день опыта интенсивность флуоресценции через 24 ч после введения фотосенса в ткани R3327 MatLyLu составляет 3,4 усл. ед. а в нормальной ткани предстательной железы – 1,7 усл. ед., т.е. индекс селективности равен 2. В окружающих органах: в мочевом пузыре и прямой кишке индекс селективности также равен 2, в семенных пузырьках – 3,4, в семенниках – 1,5 и коже лапы – 6,8. Оптимальный режим внутритканевого лазерного облучения: мощность – 50 мВт/см и время – 20 мин. Терапевтическая эффективность ФДТ с фотосенсом при таком режиме облучения составляет 61 % торможения роста опухоли. Кроме того, ФДТ при этом режиме облучения не стимулирует метастазирование R3327 MatLyLu в лимфатические узлы и легкие.

Заключение. В результате проведенного исследования установлен оптимальный режим внутритканевого лазерного облучения при проведении ФДТ с фотосенсом РПЖ R3327 MatLyLu крыс линии Copenhagen при ортотопической перевивке. На этой модели показан терапевтический эффект ФДТ с фотосенсом и не выявлено стимулирующего действия ФДТ на метастазирование в лимфатические узлы и легкие.

Д.В. Соколов¹, Л.В. Демидов², И.В. Булычева¹, А.Н. Махсон¹,
Г.Н. Ворожцов³, С.Г. Кузьмин³, Б.В. Шапков¹, В.В. Соколов³
**ВОЗМОЖНОСТИ СКРИНИНГА
МЕЛАНОМЫ КОЖИ В УСЛОВИЯХ
ОНКОЛОГИЧЕСКОГО УЧРЕЖДЕНИЯ**

¹МГОКБ №62, Москва

²ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

³ГУП МНКЦ Интермедбиофизхим, Москва

Несмотря на то, что частота меланомы составляет 3–5 % всех первичных злокачественных опухолей

кожи, она является главной причиной смерти больных в онкодерматологии. Сложность диагностики меланомы заключается в том, что практически у 90 % людей есть доброкачественные пигментные новообразования кожи, которые в ряде случаев имеют признаки, схожие с меланомой.

В рамках Научно-технической программы, утвержденной и финансируемой Правительством и мэрией Москвы, в МГОБ № 62 совместно с ГУП «МНКЦ «Интермедбиофизхим» разработан метод комплексной ранней диагностики МК на основе цифровой фотографии, эпилуминисцентной и флуоресцентной дерматоскопии.

Для разработки модели скрининга и отработки методических аспектов проведено комплексное дерматоскопическое обследование 467 больных. Всего исследовано 1735 пигментных новообразований кожи. Гистологически исследовано 287 пигментных новообразований кожи 247 пациентов. Цифровая фотография всех кожных покровов была проведена при наличии множественных атипичных невусов 87 пациентам.

Чувствительность и специфичность дерматоскопической диагностики меланомы составила 92 и 72 % соответственно. Все пациенты с наличием меланомы и атипичных меланоцитарных невусов вошли в группу высокого риска меланомы для динамического наблюдения. Предварительные результаты клинической апробации медицинской установки FotoFinder dermoscope II показали, что данный прибор позволяет проводить автоматическую диагностику меланомы с чувствительностью 80 %, специфичностью 90 %

Учитывая высокую эффективность, неинвазивный характер разработанной методики комплексной дерматоскопической диагностики меланомы кожи на основе цифровой фотографии и дерматоскопии, она должна быть в первую очередь использована для скрининга и динамического наблюдения в группах высокого риска меланомы.

Е.Ф. Странадко¹, А.И. Лобаков², В.А. Морохотов²,
Т.М. Ибрагимов¹

**ФДТ РАКА
БОЛЬШОГО ДУОДЕНАЛЬНОГО СОСОЧКА,
ЖЕЛЧНОГО ПУЗЫРЯ
И ОБЩЕГО ЖЕЛЧНОГО ПРОТОКА**

¹ФГУ ГНЦ ЛМ Росздрава, Москва

²МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва

Введение. Фотодинамическая терапия – перспективный метод лечения рака наружных и внутренних локализаций, включая труднодоступные для других методов лечения.

Цель исследования. Разработать методы подведения световой энергии (эндоскопически или с введением световодов непосредственно в билирный тракт под рентгено-телевизионным контролем), протоколы ФДТ рака большого дуоденального сосочка, желчного пузыря и общего желчного протока, а также оценить эффективность данного метода.

Материалы и методы. 21 больному раком (гистологически у 18 выявлена аденокарцинома, у 3 – рак без дополнительного уточнения) БДС, желчного пузыря, печеночных и общего желчного протока проведена ФДТ с фотосенсом или хлориновыми производными (в том числе 6 – с фотодитазинном). Все фотосенсибилизаторы вводили в/в. В зависимости от используемого фотосенсибилизатора через 2–3; 24 или 48 ч осуществляли световое воздействие. Применяли световоды с цилиндрическими диффузорами длиной 10–50 мм. Использовали катетеры, предварительно введенные для ликвидации механической желтухи методом чрескожного чреспеченочного дренирования или Т-образный дренаж после паллиативных операций.

Под рентгено-телевизионным контролем делали контрастную холангиографию и устанавливали диффузор с двумя металлическими метками в адекватной расположению опухолевого стеноза позиции. Осуществляли световое воздействие плотностью мощности 400–500 мВт/см² и общей плотностью световой энергии 100–200 Дж/см², используя полупроводниковые лазеры.

21 больному проведено 30 курсов ФДТ. Девять курсов ФДТ проведено повторно по 2–3 курса на больного через 4–6 мес. согласно протоколу для закрепления эффекта или в связи с продолженным ростом опухоли после первого курса ФДТ в сроки от 2 до 21 мес.

Результаты. У всех больных ФДТ сопровождалась улучшением субъективного самочувствия и объективных показателей (снижение уровня билирубина в сыворотке крови, уменьшение диаметра желчных протоков, отрицательные результаты биопсий).

Из осложнений заслуживает внимания развившееся у 1 больной после ФДТ рака БДС и общего желчного протока с комбинированным методом подведения света стенозирование двенадцатиперстной кишки, потребовавшее временной установки назогастрального зонда для питания с последующим восстановлением пассажа пищи и желчи естественным путем.

Средняя продолжительность жизни больных, прослеженных в соответствующие сроки, составила 2,5 года (в опубликованных в 1985–2005 гг. сериях наблюдений средняя продолжительность жизни больных после стентирования без ФДТ составляет от 45 до 127 дней). 1–; 3– и 5–летняя выживаемость больных, рассчитанная актуальным методом, составила 77,8; 63,6 и 38,2 % соответственно.

Заключение. При раке внепеченочных желчных протоков желчного пузыря и БДС ФДТ уменьшает явления холестаза, улучшает качество и увеличивает продолжительность жизни больных.

Результаты ФДТ данной локализации рака по продолжительности жизни пациентов вполне сравнимы с результатами радикальных операций и превышают таковые после паллиативных операций.

А.А. Стрижаков, А.А. Красновский
АНАЛИЗ ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ПИГМЕНТОВ ПО ИЗМЕРЕНИЮ ФОСФОРЕСЦЕНЦИИ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА ПРИ ЛАЗЕРНОМ ВОЗБУЖДЕНИИ
ИБ ИМ. А.Н. БАХА РАН, МОСКВА

Фотосенсибилизированная фосфоресценция синглетного кислорода с максимумом при ν 1270 нм, сопровождающая излучательный переход молекулы триплетного из низшего ($^1\Delta_g$) синглетного в основное триплетное состояние, широко используется для диагностики эффективности фотосенсибилизированного образования синглетного кислорода пигментами, важными для фотодинамической терапии рака и других болезней. В настоящем сообщении описаны методика измерения фотосенсибилизированной фосфоресценции кислорода на установке с импульсным лазерным возбуждением и информация о кинетических и спектральных свойствах синглетного кислорода и параметрах пигментов-фотосенсибилизаторов, которая может быть получена с их помощью.

В кюветное отделение флуориметра помещается кювета с исследуемой пробой. Возбуждение пробы происходит с помощью импульсных лазеров. Мы располагаем лазером на парах меди; λ генерируемого излучения – 511 и 578 нм (одинаковой интенсивности), частота импульсов – 12,5 кГц, мощность – 2 Вт; и лазером на парах золота, λ генерируемого излучения 628 нм, частота импульсов – 16 кГц, мощность – 0,65 Вт.

Фосфоресценция пробы регистрируется фотоумножителем, который охлаждается парами жидкого азота до –50 °С для уменьшения темнового шума. Установлено, что при облучении растворов пигментов наносекундными лазерными импульсами кинетика фосфоресценции хорошо описывается следующим двухэкспоненциальным уравнением:

$$I(t) = \frac{k_{\Delta} \cdot k_e \cdot [^3P]_0 \cdot [O_2]}{1/\tau_i - 1/\tau_{\Delta}} \cdot [\exp(-t/\tau_{\Delta}) - \exp(-t/\tau_i)]$$

где

k_{Δ} – скорость переноса энергии от триплетных молекул фотосенсибилизатора (3P) на кислород

k_e – константа скорости излучательной дезактивации синглетного кислорода в растворе;

τ_i – время жизни 3P в исследуемом содержащем кислород растворе;

$[^3P]_0$ – концентрация триплетных молекул фотосенсибилизатора в момент окончания возбуждающей вспышки;

$[O_2]$ – концентрация кислорода в растворе;

τ_{Δ} – время жизни синглетного кислорода в данном растворе.

Из этого уравнения можно получать данные о времени затухания и нарастания фосфоресценции синглетного кислорода после лазерной вспышки. Время нарастания равно времени жизни триплетного состояния красителя в данной системе, а время затухания равно времени жизни синглетного кислорода.

По интегральной сумме кинетической кривой можно рассчитать квантовый выход синглетного кислорода красителя (сравнивая со стандартами). Справедливость этих представлений и полученные с их помощью параметры красителей иллюстрируется на примере красителей пяти классов: производных тетрафенилпорфина, хлоринов и бактериохлоринов, фталоцианинов и флуоресцирующих цветных белков.

Данные показывают, что кинетический фосфоресцентный метод является исключительно эффективным способом изучения механизма и фотосенсибилизирующей активности пигментов.

П.И. Толстых, В.А. Дербенев, Ф.Е. Шин, П.Г. Мамонтов, А.Д. Соловьёва
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФОТОДИТАЗИНА, ИММОБИЛИЗОВАННОГО НА АМФИФИЛЬНЫХ ПОЛИМЕРАХ, В ХИРУРГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ
ФГУ ГНЦ ЛМ ФМБА, Москва

В работах последних лет (П.И. Толстых и соавт., 2008; Solovieva A.B. et al., 2008; Souhodolskaya T.N. et al., 2008 и др.). Обнаружено, что некоторые малотоксичные амфифильные полимеры значительно увеличивают способность ряда порфириновых фотосенсибилизаторов, в том числе фотодитазина, катализировать процессы окисления с участием синглетного кислорода (патент РФ №2314806, 2008). В связи с этим, мы провели сравнительное исследование на 100 нелинейных крысах массой 240±30 г по эффективности лазерной ФДТ с фотодитазинном, иммобилизованным методом комплексирования лекарственных средств, фотодитазинном и холосенсом, которые использовались в форме геля и растворов. Установлено, что использование фотодитазина, иммобилизованного методом комплексирования лекарственных средств на амфифильных полимерах, при лазерной ФДТ сокращает сроки очищения гнойных ран в 2,17 раза по сравнению с традиционным лечением и в 1,9 раза по сравнению с проведением фотодинамической терапии с использованием холосенса и фотодитазина в других лекарственных формах. Сроки заживления гнойных ран сократились на 5,8–3,5 суток соответственно.

Проведенные морфологические исследования показали, что лазерная фотодинамическая терапия с фотодитазинном, иммобилизованным методом комплексирования лекарственных средств на основе амфифильных полимеров, по сравнению с другими формами фотосенсибилизаторов (растворами и гелем фотодитазина и холосенса) способствует нормализации микроциркуляторных нарушений, активации пролиферации клеточных элементов макрофагального и фибробластического ряда, ангио- и коллагеногенеза и ускорению созреванию грануляционной ткани.

На основании микробиологического исследования доказано, что лазерная фотодинамическая терапия с фотодитазинном, иммобилизованным методом комплексирования лекарственных средств на амфифильных полимерах, более эффективно снижает бактериальную обсемененность тканей, формирующих рану, чем фотосенсибилизаторы в виде других лекарственных форм (холосенс и фотодитазин в растворе или геле).

О.И. Трушина¹, Е.Г. Новикова¹, В.В. Соколов¹, Е.В. Филоненко¹, Е. А. Чулкова¹, В.И. Чиссов¹, Г.Н. Ворожцов²
ФДТ ПРЕДРАКА И РАННЕГО РАКА ВУЛЬВЫ

¹ФГУ МНИОИ им. П.А.Герцена

²ГУП «МНКЦ «Интермедбиофизхим»

В ФГУ «МНИОИ им. П.А.Герцена» проведены клинические испытания ФДТ с оценкой эффективности устранения очагов предрака, раннего рака и эрадикации папилломовирусной инфекции (ПВИ) у 18 больных (группа 1) с тяжелой дисплазией (VIN III) и у 4 больных (группа 2) – с *cancer in situ* вульвы.

Все пациентки прошли стандартное гинекологическое обследование. ПВИ слизистой вульвы установлена в 89 % наблюдений. В первой группе ФДТ проводили с местным применением препарата аласенс (5-аминолевулиновая кислота) в виде аппликации 20 %-ной мази за 3–4 ч до лазерного облучения (λ 630 нм). Во второй группе ФДТ выполнялась с двумя фотосенсибилизаторами: эндогенным протопорфирином IX, индуцированным аласенсом, введенным *per os* за 2 ч до лазерного облучения (λ 630 нм) и радахлорином, введенным в/в в дозе 0,6 мг/кг за 2 ч до ФДТ (λ 662 нм). Лазерное облучение вульвы выполнялось с использованием макролинзы с Ø светового пятна 3–5 см. ФДТ проводилась тремя курсами с интервалом в 1–1,5 мес.

Полная регрессия в группе VIN III наблюдалась у 15 из 18 больных, в группе карциномы *in situ* – у 3 из 4. Эрадикация ПВИ достигнута у 86% женщин. В случае с частичной регрессией карциномы *in situ* после ФДТ была выполнена вульвэктомия.

Таким образом, ФДТ при предраке и раннем раке вульвы с применением отечественных фотосенсибилизаторов является эффективным органосохраняющим методом лечения, обладающим противоопухолевым и противовирусным действием, что особенно важно у женщин репродуктивного возраста.

А.З. Хашукова, О.Б. Отдельнова, М.И. Ибрагимова
ФДТ ПРИ ПАТОЛОГИИ ЭНДОМЕТРИЯ

Кафедра акушерства и гинекологии ГОУ ВПО РГМУ, Москва

Введение. Одним из перспективных и высокотехнологичных методов лечения гинекологических заболеваний является ФДТ, основанная на селективной деструкции пролиферирующих клеток в результате фотохимических реакций при взаимодействии накапливающегося в клетках фотосенсибилизатора и активирующего его света определенной λ.

Цель исследования. Оценка эффективности ФДТ при лечении гиперпластических процессов эндометрия.

Материалы и методы. Нами были обследованы 92 пациентки с морфологически верифицированным диагнозом гиперпластического процесса эндометрия. Из них фотодинамическая деструкция эндометрия была выполнена 60 больным, находящимся в пери- и постменопаузе, в возрасте 41–68 лет (ср. 50,8 ± 1,5 года). По характеру выявленной патологии эндометрия в группе ФДТ больные распределились следующим образом: 2 пациентки с атипичической гиперплазией эндометрия; 10 больных с простой гиперплазией без атипии и 24 больных со сложной гиперплазией без атипии; у 24 женщин выявлены полипы эндометрия. Все пациентки этой группы имели сопутствующую экстрагенитальную патологию различной степени выраженности, послужившую основанием для выбора в качестве метода лечения ФДТ, причем в 85 % случаев отмечалось сочетание различных нозологических форм. В контрольную группу были включены 32 женщины в возрасте 46–53 лет (ср. 52 ± 1,4 года), получившие гормональную терапию. У пациенток этой группы не было выявлено тяжелой сопутствующей патологии. Предоперационное обследование пациенток с ГПЭ стандартно включало УЗИ органов малого таза, гистероскопию с тотальным кюретажем эндометрия и последующим гистологическим исследованием полученного материала, обследование шейки матки.

Цель работы. Выбор оптимальных временных параметров начала облучения, соответствующих максимуму накопления ФС в эндометрии *in vivo*. Использован метод локальной флюоресцентной спектроскопии с помощью спектрально-флюоресцентной диагностической установки «Спектр-Кластер» («Кластер», ИОФ РАН, РФ). Измерения проводились до введения ФС (оценка эндогенной аутофлюоресценции) и через 30; 60; 90; 120 и 160 мин. после в/в введения ФС (экзогенная возбужденная флюоресценция тканей). Максимальные значения флюоресценции, а, следовательно, и накопления фотодитазина регистрировались в эндометрии через 1,5–2 ч после в/в введения. Именно эти исследования и явились определяющими в оптимизации начала лазерного облучения полости матки.

Согласно методике сеанс облучения слизистой тела матки осуществлялся на аппарате «Аткус-2» (λ 662 нм, мощность на выходе 1,85–2,0 Вт) через 1,5–2 ч после внутриматочного и/или в/в введения ФС фотодитазин в дозе 1–1,5 мг/кг без применения анестезиологического пособия. Использовался световод с оригинальным оптическим внутриматочным баллонным диффузором («Полироник», РФ). Расширения цервикального канала не требовалось благодаря небольшому (3 мм) Ø баллонного световода, проводимого через цервикальный канал. После введения в полость матки баллон заполняли стерильным раствором дистиллированной воды (3,5 мл) для принятия треугольной формы, соответствующей анатомии полости матки для равномерного распределения лазерного излучения. Световое воздействие проводили в непрерывном или фракционном режимах, длительность облучения составила 15–40 мин. при плотности энергии 150–300 Дж/см².

Лечение пациенток контрольной группы: в 17 случаях применялись агонисты ГРГ; в 13 – гестагены; в 2 – антиэстрогены. Длительность гормонотерапии – 3–6 мес.

Результаты. У больных с ГПЭ эффективность ФДТ оценивали на основании данных УЗИ срединных маточных структур на 7; 30-е сутки после процедуры, а также, спустя 3; 6 и 12 мес после операции. Анализ полученных данных показал: у всех пациенток на 7 день после проведения ФДТ отмечалось незначительное расширение полости матки (М-эхо 4–7 мм), что связано со скоплением в полости незначительного количества жидкости. Однако на 30-е сутки во всех наблюдениях отмечено линейное М-эхо. Через 6 мес в 88,7 % случаев М-эхо составило 2–4 мм. У 2 пациенток (через 2 до 6 мес.) выявлены рецидивы ГПЭ, что потребовало проведения повторной ФДТ.

У 20 пациенток прослежены отдаленные результаты лечения в сроки до 12 мес. У всех наблюдалась стойкая аменорея на фоне линейного М-эхо по данным ультразвукового исследования срединных маточных структур. Однако у одной пациентки сохранилась менструальная функция при отсутствии патологии эндометрия по данным морфологического исследования соскоба из полости матки.

Диагностическая гистероскопия выполнялась через 12 месяцев после проведения процедуры у всех пациенток с атипической гиперплазией эндометрия и у 18 больных с ГПЭ, получавших лечение методом ФДТ. Гистероскопическая картина была представлена атрофией эндометрия на фоне отсутствия облитерации полости матки.

Побочные эффекты были отмечены в 15 наблюдениях и заключались в слабо и умеренно выраженном болевом синдроме во время и непосредственно после проведения ФДТ, что быстро купировалось назначением ненаркотических анальгетиков в течение 12 ч. после сеанса. В 3 случаях имело место повышение температуры до субфебрильных цифр на 2 сутки после операции, что потребовало назначения профилактической антибактериальной терапии. В одном случае на 10 день после проведения ФДТ у пациентки с варикозной болезнью был диагностирован тромбоз в бассейне большой подкожной вены бедра. Больная прооперирована в плановом порядке.

Оценка эффективности гормональной терапии проводилась через 6 мес и основывалась на данных аспирационной биопсии эндометрия. Клиническая ремиссия отмечена в 84,4 % случаев. При этом у 5 больных (15 %) с сочетанной и соматической патологией возник рецидив ГПЭ в сроки от 6 до 24 мес после окончания лечения. Среди побочных эффектов преобладали прибавка массы тела у 29 больных и мастодиния у 13 пациенток. В то время как максимальное количество побочных реакций отмечалось в группе пациенток, получающих агонисты гонадотропин-релизинг гормона.

Выводы. Мониторинг отдаленных результатов в группе пациенток с гиперплазией эндометрия показал, что ФДТ была эффективна в 87 % случаев, а в случаях рецидива было возможно повторное проведение сеанса ФДТ с достижением полного клинического эффекта. В отличие от пациенток, получавших гормональную терапию в течение 6 месяцев, у этих больных не отмечено сколько-нибудь серьезных осложнений и побочных эффектов. В то же время в группе сравнения в большем проценте случаев наблюдались нежелательные побочные эффекты, которые носили стойкий характер. В 15 % случаев имел место рецидив заболевания, тогда как у женщин после ФДТ рецидив заболевания, купированный повторным сеансом фотодеструкции, отмечен только у 2 пациенток (3 %).

А.З. Хаиукова, О.Б. Отдельнова

ФДТ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ФОТОДИТАЗИН В ЛЕЧЕНИИ ДИСТРОФИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ВУЛЬВЫ

Кафедра акушерства и гинекологии, ГОУ ВПО РГМУ, Москва

Введение. ФДТ в настоящее время завоевывает все новые рубежи в качестве эффективного метода терапии гинекологических заболеваний. ФДТ – метод воздействия на патологические ткани путем активации фотосенсибилизатора светом с заданной λ для деструкции патологических клеток преимущественно по механизму апоптоза.

Цель исследования. Изучение эффективности и переносимости метода ФДТ у пациенток с дистрофическими заболеваниями вульвы.

Материалы и методы. ФДТ была изучена при лечении 6 пациенток с доброкачественными заболеваниями

ми вульвы. Из них, у 4 больных со склеротическим лишаем вульвы и у 2 – с плоскоклеточной гиперплазией вульвы. Для уточнения характера выявленной патологии производилось онкоцитологическое исследование соскоба с вульвы, вульвоскопия, ПЦР-диагностика для выявления вируса папилломы человека различных типов, а на заключительном этапе диагностики была проведена биопсия патологических участков.

ФДТ была проведена с использованием ФС фотодитазин в комбинации внутривенного введения в дозе 1 мг/кг и местной аппликации на патологический очаг вульвы 1 мл 0,5%-ного геля–пенетратора фотодитазина. Время экспозиции облучения полупроводниковым лазером «Аткус-2» под местной анестезией 2%-ным раствором лидокаина составило 10–30 мин при плотности световой дозы 100–200 Дж/см².

Результаты. Лечебный эффект оценивался визуально и на основании указаний на наличие или отсутствие зуда в области вульвы. Так, исчезновение зуда в области вульвы отмечено у 3 из 4 больных склеротическим лишаем вульвы. Всем пациенткам с плоскоклеточной гиперплазией были проведены цитологические исследования соскобов с вульвы и вульвоскопия, на основании которых было достоверно диагностировано клиническое излечение. При наблюдении через 3 мес. лечебный эффект сохранялся. 1 больной со склеротическим лишаем вульвы потребовалось проведение повторного сеанса ФДТ ввиду сохранения клинических симптомов заболевания, после чего был достигнут положительный лечебный эффект. Больная прослежена в течение 3 мес. Побочные реакции отмечены во всех случаях и заключались в слабо, умеренно и сильно выраженном болевом синдроме во время проведения ФДТ, что ограничивало подведение адекватной терапевтической дозы световой энергии и потребовало досрочного завершения сеанса облучения у одной пациентки.

Полная клиническая ремиссия отмечена у 5 из 6 больных. Одной пациентке со склеротическим лишаем вульвы потребовалось проведение повторного сеанса ФДТ, после чего было диагностировано клиническое излечение. Во всех случаях был зафиксирован хороший косметический эффект, что является особенно актуальным у молодых пациенток репродуктивного возраста.

Заключение. Полученные предварительные результаты клинической апробации метода фотодинамической терапии с использованием ФС фотодитазин при лечении женщин с патологией вульвы неопухолового генеза показали его высокую лечебную активность, минимальное количество осложнений и побочных эффектов. Метод отличается избирательностью, а также деликатным характером воздействия на патологические ткани. Кроме того, простота выполнения процедуры ФДТ, а также отсутствие необходимости в анестезиологическом пособии делает возможным использование его в амбулаторных условиях и обуславливает необходимость внедрения в широкую клиническую практику.

В.И. Чиссов¹, Л.А. Вашакмадзе¹, В.В. Соколов¹, Н.А. Гришин¹, А.В. Бутенко¹, Е.Г. Новикова¹, Д.В. Сидоров¹, Е.В. Филоненко¹, М.В. Ложкин¹, В. Лукин¹, А. Шевчук¹, Г.Н. Ворожцов²

ЛАПАРОСКОПИЧЕСКАЯ ИНТРАПЕРИТОНЕАЛЬНАЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА И ФДТ В ОНКОЛОГИИ

¹ФГУ МНИОИ ИМ. П.А. ГЕРЦЕНА, Москва

²ГУП «МНКЦ «Интермедбиофизхим»

В 2001–2007 гг. флюоресцентная лапароскопия в комбинации с локальной спектроскопией, лапароскопическая операция и лапароскопическая ФДТ были проведены 63 больным с абдоминальной опухолевой патологией.

У 51 больного использован индуктор протопорфирина IX аласенс (5-ALA) – интраперитонеальное или внутривенное введение, у 12 применен внутривенно препарат Фотогем в дозе 2,5-3,0 мг/кг, за 48 ч до лапароскопии. Для ФД использована флюоресцентная лапароскопическая система D-light/AF (Karl Storz, Германия). Для интраперитонеальной ФДТ очагов диссеминации применялась методика полипозиционного лазерного облучения всех участков обоих листков брюшины (λ 635 нм) с плотностью энергии 5-10 Дж/см².

Первую группу составляли пациенты, страдавшие раком желудка III ст. (28); вторую – больные с мезотелиомой и псевдомиксомой брюшины (6); третью – женщины, страдающие раком яичников после хирургического или комбинированного лечения (29). Лапароскопическая операция в сочетании с ФДТ брюшины была проведена 12 больным (19 лечебных сеансов): после гастрэктомии – 6, при мезотелиоме брюшины – 4, при псевдомиксеме брюшины – 2 больным.

У 4 (22,2 %) больных ФД выявила дополнительную скрытую опухолевую диссеминацию по брюшине, подтвержденную при морфологическом исследовании. Это позволило уточнить стадию заболевания, а также скорректировать программу и выбрать оптимальный метод лечения. После лапароскопической ФДТ у 7 из 12 больных констатирована полная или частичная регрессия очагов диссеминации по брюшине с клиническим признаками стабилизации опухолевого процесса, исчезновения или значительного снижения объема асцитической жидкости. Максимальный период стабилизации опухолевого процесса – 4,5 года. Токсических или аллергических реакций при применении фотосенсибилизаторов не было. Послеоперационный период у всех пациентов проходил без осложнений.

Н.М. Шахова^{1,2}, И.В. Балалаева^{3,1}, А.А. Брилкина^{3,1}, С.В. Гамаюмов², Е.В. Загайнова^{2,1}, Р.Р. Калугина², А.Г. Орлова^{1,2}, Е.А. Сергеева¹, В.В. Слугарев^{4,1}, Ю.А. Стрельцова², И.В. Турчин¹, М.В. Ширманова^{2,3}, И.А. Январева¹

ТЕХНОЛОГИЯ МОНИТОРИНГА ФДТ НА ОСНОВЕ МЕТОДОВ ОПТИЧЕСКОГО БИОИМИДЖИНГА

¹ИПФ РАН, Н. Новгород

²НижГМА Росздрава, Н. Новгород

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

⁴ГУЗ ООД, Н. Новгород

Задачи исследования. Работа направлена на развитие комплекса оптических методов визуализации применительно к фотодинамической терапии. Использование комплекса на основе диффузионной флюоресцентной томографии, многофотонной флюоресцентной микроскопии и ОКТ позволяет неинвазивно изучать селективность накопления и механизмы воздействия ФС на опухолевые ткани на разных уровнях живой системы.

Материалы и методы. В исследовании использованы ОКТ- и ДФТ-установки, разработанные в ИПФ РАН (Н. Новгород), и установка для МФМ (Carl Zeiss, Spectra Physics). Изучены отечественные фотосенсибилизаторы фотосенс, аласенс и фотодитазин. Объектами изучения были экспериментальные животные с привитыми опухолями (мыши линии СВА с привитым подкожно РШМ-5 и гибриды BDF1 с карциномой легкого Льюис LLC) и клеточные культуры опухоли (клеточная линия Т-24 карциномы мочевого пузыря). Клинические исследования выполнены с участием пациентов Областного онкологического диспансера.

Результаты. Показана возможность неинвазивного мониторинга биораспределения фотосенсибилизаторов на органном и организменном уровне методом ДФТ и на клеточном и субклеточном уровне методом МФМ. Проведена оценка пространственных и временных парамет-

ров, характерных для каждого препарата. С использованием ОКТ получены прижизненные изображения поверхностных опухолей человека на разных этапах ФДТ, показана возможность наблюдения за изменением структуры опухоли в результате воздействия.

Выводы. Разработанная технология может быть использована в экспериментальной онкологии для оптимизации и развития существующих и обоснования новых подходов к ФДТ. ОКТ перспективна для применения в клинической практике на этапе диагностики злокачественных новообразований и для оценки эффективности их лечения методом ФДТ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты №№ 07-02-01262, 07-02-01146, 08-02-99049) и программы Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине»

С.А. Ягников, О.А. Кулешова ФДТ СПОНТАННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ РАЗЛИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ У СОБАК И КОШЕК

ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

ООО Биоконтроль, Москва

Цель исследования. Изучить клиническую эффективность ФДТ у собак и кошек со спонтанными новообразованиями различной локализации.

Материалы и методы. ФДТ выполнена 11 животным (1 собака и 10 кошек разных пород, пола, возраста, массы тела), поступивших в клинику в 2007–2008 гг. На первичном приеме у животных был взят материал для цитологического исследования, по результатам которого у 4 кошек с новообразованием слизистой ротовой полости выявлен плоскоклеточный неороговевающий рак, у собаки – рабдомиосаркома, у остальных 6 кошек – реактивное разрастание ткани и воспаление. Перед проведением ФДТ в наркозе у животных брали биопсию из патологического очага для постановки окончательного диагноза. Гистологически ни в одном случае не обнаружено признаков опухолевого роста. По данным гистологического исследования новообразований поставлены следующие диагнозы: эозинофильная гранулема (1 из 11), плоскоклеточная папиллома (2 из 11), организующаяся ткань (1 из 11), грануляционная ткань (4 из 11), эпулисы (2 из 11), воспаление (1 из 11). Для проведения ФДТ использовали ФС фотодитазин и источник лазерного излучения аппарат «Актус-2», с λ 661 нм.

Результаты. У 1 кошки с диагнозом эозинофильная гранулема на 20 день после одного курса ФДТ была отмечена полная регрессия новообразования. У 8 кошек из 10 с диагнозами организующаяся ткань, папиллярный гранулематоз, грануляционная ткань, эпулисы, воспаление после 1, 2 курсов ФДТ наблюдали частичную регрессию процесса. У 1 кошки с новообразованием размером 1 см, гистологическое исследование которого соответствовало грануляционной ткани, после 1 курса ФДТ на 30 сутки – полная регрессия. Период ремиссии составляет 6 мес на момент написания данной статьи. У собаки через 1,5 мес после 3 курса ФДТ – полная регрессия новообразования языка, подтвержденная гистологически. Период ремиссии составляет 11 мес.

Выводы.

1. У кошек 2–4 лет и старше новообразования слизистой ротовой полости носят доброкачественный характер, наиболее типичны эозинофильная гранулема, разрастание грануляционной и организующейся ткани с экспансивной формой роста, эпулисы, папилломы и хроническое воспаление.
2. ФДТ может быть методом выбора для лечения спонтанных новообразований различной локализации.

Д.М. Ягудеев¹, А.Е. Сорокатый¹, А.В. Гейниц²
ФДТ В УРОЛОГИИ

¹ГКБ № 51, Москва

²ФГУ ГНЦ ЛМ Росздрава, Москва

Введение. Перспективным, но недостаточно изученным направлением в диагностике и лечении опухолей нижних мочевыводящих путей является ФДТ – технология, основанная на химической реакции, катализатором которой является кислород, активированный энергией лазерного излучения, и фотосенсибилизатором. За последние десятилетия ФДТ занимает все более прочные позиции в лечении больных, страдающих злокачественными новообразованиями и некоторыми неопухолевыми заболеваниями. На протяжении прошедшего века специалисты неоднократно проявляли интерес к возможности использования фотодинамической терапии у урологических больных, в частности, при раке мочевого пузыря и аденоме предстательной железы. Широкому использованию ФДТ в урологии препятствовала высокая системная и местная токсичность применяемых ФС(фотофрин, фотогем, фотосан) и несовершенство методов проведения.

Цель исследования. Улучшить результаты лечения больных поверхностным раком мочевого пузыря и аденомой предстательной железы за счет разработки и внедрения новых методов ФДТ.

Материалы и методы. Для проведения ФДТ пациентам с РМП и АПЖ необходим набор инструментов и оборудования, включая управляемый операционный стол, эндоскопическую стойку, стандартный цистоскоп с прямым рабочим каналом, лазерный аппарат «АТКУС-2», интегральный измеритель мощности ИИП-1, спектрально-флуоресцентное диагностическое устройство «СПЕКТР-КЛАСТЕР», световое волокно с прямым отражением света и фиброоптическое волокно с цилиндрическим диффузором (длина диффузора 2 см), силиконовый баллон, специальный катетер с двумя силиконовыми баллонами для предстательной железы. Для ирригации использовалась дистиллированная вода. Фотосенсибилизатор фотодитазин (ООО «Вета-Гранд», Москва) – производное хлорина Е6. Сеанс ФДТ при РМП разделен на 2 этапа. На первом производится локальное облучение самой опухоли. Время экспозиции находится в прямой зависимости от площади, подвергаемой облучению, удельной мощности и дозы световой энергии, необходимой для деструкции опухоли. На втором этапе в мочевой пузырь вводится силиконовый баллон с размещенным внутри него фиброоптическим волокном с цилиндрическим диффузором и заполненный дистиллированной водой, после чего продолжается фотодинамическое воздействие без визуального контакта на всю слизистую оболочку мочевого пузыря.

ФДТ при АПЖ осуществляется путем фотодинамического воздействия на ткань предстательной железы диодным лазером с выходной мощностью от 0,5 до 2 Вт и λ 662 нм, удельной мощностью 200 МВт/см² и удельной дозой световой энергией 150–250 Дж/см² в течение 12,5–21 мин в присутствии фотосенсибилизатора фотодитазина, вводимого внутривенно из расчета 1 мг/кг за 3 ч до сеанса ФДТ.

Для проведения ФДТ было отобрано 50 мужчин, страдающих АПЖ с клиническими проявлениями заболевания. Возраст пациентов колебался от 58 до 79 лет ($M=70,53$; $m=0,81$) и 30 пациентов с поверхностным раком мочевого пузыря ($T_a - T_1$). Возраст пациентов колебался от 41 до 82 лет (средний 75,8 $\pm$ 0,83 года). Мужчин 16, женщин – 14.

Результаты. Опрос жалоб пациентов с АПЖ по системе I-PSS показал выраженность симптоматики и составил 22,6 $\pm$ 1,6 балла. Качество жизни пациентов – 1

4,33 $\pm$ 0,13. Объем предстательной железы варьировал от 35 до 164 см³ ($M=69,5$; $m=5,98$ см³). Объем остаточной мочи – 159,2 $\pm$ 24,1 см³. У всех пациентов отмечались сниженные уродинамические показатели. В частности, максимальная скорость потока мочи (Q_{max}) была снижена и составляла 5,62 $\pm$ 0,32 мл/с.

Первое контрольное обследование больных проводилось через 1 месяц после сеанса ФДТ. Опрос жалоб по системе I-PSS показал снижение выраженности симптомов до 11,1 $\pm$ 1,1 балла. L улучшилось и составило 2,57 $\pm$ 0,19. При УЗИ отмечалось уменьшение объема простаты до 56,33 $\pm$ 5,45 см³. Объем остаточной мочи уменьшился и составил 42,7 $\pm$ 9,7 см³. Q_{max} возросла до 7,84 $\pm$ 0,31 мл/с.

К третьему месяцу отмечена тенденция к улучшению показателей. I-PSS составил 10,07 $\pm$ 1,09 балла, L – 2,33 $\pm$ 0,18. Объем предстательной железы, по сравнению с исходным уменьшился и составил 53,0 $\pm$ 5,64 см³. Количество остаточной мочи сократилось до 22,97 $\pm$ 4,79 см³. Максимальная скорость потока мочи возросла до 9,14 $\pm$ 0,28 мл/с.

К году наблюдения I-PSS снизилось до 7,47 $\pm$ 1,28 баллов, качество жизни пациентов L – 1,93 $\pm$ 0,14. Объем предстательной железы уменьшился на 34,8 % и составил 45,33 $\pm$ 4,53 см³. Количество остаточной мочи сократилось до 14,67 $\pm$ 3,09 см³. Максимальная скорость потока мочи возросла до 10,51 $\pm$ 0,23 мл/с.

Продолжительность сеанса ФДТ при РМП колебалась от 15 до 60 мин и находилась в прямой зависимости от размера опухоли, а следовательно, от площади облучаемой поверхности. Общая выживаемость пациентов составила 96,7 %. Средняя продолжительность пребывания в стационаре пациентов с учетом повторных госпитализаций составила 12,1 $\pm$ 1,03 сут. Средний срок наблюдения – 2,7 года. Продолжительность дренирования мочевого пузыря уретральным катетером не превышала 1 сут. Самостоятельное мочеиспускание восстановилось у всех пациентов. Проявлений местной токсичности до сеанса ФДТ в виде дизурии, гематурии не было. Проявлений системной токсичности препарата в виде гипертермии, фотодерматита (солнечные ожоги кожных покровов) также не было.

В раннем послеоперационном периоде учащенное, болезненное мочеиспускание было у 13 (43 %) пациентов после удаления уретрального катетера на протяжении 1–3 сут. Макрогематурия отмечена у 3 (10 %) больных в первые сутки после ФДТ. Данных за позднее кровотечение ни в одном из случаев наблюдения замечено не было. Снижение емкости мочевого пузыря зарегистрировано у 1 (3,3 %) пациента.

Отметим, что у всех пациентов отмечена полная или частичная резорбция опухоли. У 4 (13 %) больных опухоль подверглась частичной резорбции после 1 сеанса ФДТ. В этом случае сеанс был повторен.

Общее количество рецидивов – 5 (16,6 %) случаев. Расчет безрецидивной выживаемости проводился по методу Каплана–Мейер (экспертный «life-table»-метод, рекомендуемый к применению UICC). Наибольший интерес представляет скорректированная 2-летняя БРВ: подавляющее количество рецидивов РМП возникает в течение первых двух лет наблюдения. После ФДТ при РМП БРВ составила 79,7 %.

Заключение. ФДТ является современным малоинвазивным методом лечения рака мочевого пузыря и аденомы предстательной железы и может использоваться как самостоятельно, так и в сочетании с другими методами лечения. Использование ФДТ по предложенным способам позволяет не только уменьшить сроки пребывания больного в стационаре, но и значительно снизить количество рецидивов и осложнений у пациентов пожилого и старческого возраста.

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ФОРМЫ

С.А. Беляев¹, Н.К. Юркинович¹, Н.В. Голуб¹,
Т. Л. Юркинович¹, П.М.Бычковский¹, Ф.Н. Капу-
цкий¹, Д.П. Веевник², А.С. Федулов², И.И. Сакович²
**ПОЛУЧЕНИЕ ПРОЛОНГИРОВАННОЙ
ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ТЕМОЗОЛОМИДА,
ИССЛЕДОВАНИЯ *IN VITRO***

¹НИИ ФХП БГУ, Минск

²ЛПУ 9 КБ, Минск

Цель настоящей работы – получение пролонгированной формы темозоломида, представляющей собой гидрогель для локальной (местной) химиотерапии злокачественных образований головного мозга на основе биodeградируемого полимера – фосфорилированного декстрана. Благодаря удачному сочетанию физикохимических (наличие ионогенных групп, высокая степень набухания) и медико-биологических (биосовместимость, нетоксичность, способность рассасываться в тканях организма без воспалительной реакции, относительная устойчивость в биологических средах) свойств определенный интерес вызывает использование в качестве биорассасывающихся полимеров-носителей модифицированных полисахаридов. Один из таких новых и перспективных полисахаридов – высокозамещенный фосфат декстрана (ВЗФД), являющийся ограниченно-набухающим гелем.

Изучены закономерности фосфорилирования декстрана в системе $H_3PO_4/P_2O_5/Bu_3PO_4/CCl_4$, получены фосфаты декстрана с высокой степенью замещения и создание на его основе полимерной формы темозоломида. Установлены зависимости накопления фосфорнокислых групп от соотношения компонентов реакционной смеси и температуры, от времени проведения реакции. Изучено влияние числа фосфорнокислых групп ВЗФД на степень набухания. Разработана методика введения темозоломида (Temodal, Shering-Plough) в ВЗФД. Создана ЛФ ВЗФД – темозоломид.

Доклинические исследования выявили пролонгированный дозозависимый цитотоксический эффект полимерной формы темозоломида в течение 24 ч на глиальные клетки в культуре: ингибирование пролиферации (в дозах 375 и 137,5 мкг/мл) и цитодеструктивное действия на клетки глиомы (использовались большие дозы – 1500 и 750 мкг/мл). Максимально токсической дозы полимерной формы темозоломида (3 мг на 1 мл геля) не выявлено, что предполагает отсутствие значимого общетоксического действия на ГМ и организм в целом.

Е.В. Игнатьева, Е.В. Тазина, Л.Г. Гатинская,
И.В. Ярцева, Н.А. Оборотова
**ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ТЕРМОЗАВИСИМОЙ
ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ
ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ
ФОРМЫ ДОКСОРУБИЦИНА**

ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Поиск новых средств доставки основного действующего вещества – важное направление повышения эффективности лекарственной терапии злокачественных новообразований. В качестве новой лекарственной формы доксорубицина предложены термочувствительные липосомы, способные высвобождать препарат в ответ на действие локальной гипертермии, в процессе которой опухоль нагревается до 41–43 °С.

Цель исследования. Разработка критериев и параметров оценки качества лекарственной формы «Доксорубицин термолипосомальный лиофилизат для приготовления раствора для инъекций 0,7 мг» (ТЛЛФД-лио).

Материалы и методы. Образцы ТЛЛФД-лио; УФ-спектроскопия, лазерная спектрометрия, потенциометрия.

Результаты. Для стандартизации ТЛЛФД-лио выбраны следующие критерии: описание, подлинность, средняя масса содержимого флакона, размер липосомальных везикул, pH, потеря в массе при высушивании, количественное определение доксорубицина. Подлинность препарата подтверждали электронным спектром поглощения, характерным для доксорубицина. Определение $\bar{O}_{sr}$ везикул проводили в проводящем лазерном луче с помощью фотонного корреляционного анализатора на приборе Submicron Particle Sizer Nicomp-380 (США). Величину pH определяли потенциометрически. Содержание доксорубицина во флаконе (мг) определяли спектрофотометрически при λ 252±2 нм, используя рабочий стандартный образец. Основные показатели качества ТЛЛФД-лио приведены в таблице. Для установления срока годности ТЛЛФД-лио 3 серии лекарственной формы хранили в сухом, защищенном от света месте при температуре –18 °С. Контроль проводили по перечисленным выше критериям. При хранении в течение 1 года значимых изменений качества препарата не произошло.

Выводы. На основании проведенных исследований установлены параметры критериев качества ТЛЛФД-лио и разработан проект ФСП.

Таблица

Основные показатели качества ТЛЛФД-лио

Описание	Средняя масса содержимого флакона, г	pH	Размер везикул, нм	Потеря в массе при высушивании, %	Содержание доксорубицина в одном флаконе, мг
Ллиофилизированная сухая пористая масса красновато-розового цвета	0,088 – 0,098	7,3 – 7,8	Не более 250	Не более 3	0,6 – 0,8

Е.И.Михаевич, А.П.Полозкова, О.Л.Орлова,
С.А.Партолина, Н.П.Яворская, И.С.Голубева,
З.С.Смирнова, Н.А.Оборотова, Р.Н.Аляутдин
**ПОДХОДЫ К РАЗРАБОТКЕ
ПАРЕНТЕРАЛЬНОЙ
ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ
ЦИФЕТРЕЛИНА**

ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н.БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Введение. В последнее время повышенный интерес химиотерапевтов вызывает поиск новых противоопухолевых средств, в частности – среди пептидных гормонов гипоталамуса. Одним из наиболее перспективных объектов изучения является соматостатин, обладающий широким спектром биологического действия и способностью ингибировать пролиферативные процессы. Для синтетических аналогов эндогенного соматостатина (октреотид, лантреотид) характерно отсутствие токсичности и высокая избирательность противоопухолевого действия. В лаборатории химического синтеза ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН был синтезирован еще один аналог соматостатина – Цифетрелин. В связи с плохой растворимостью лекарственного вещества в воде стояла задача солюбилизации препарата.

Цель исследования. Создание модели лекарственной формы цифетрелина для парентерального введения. Изучение противоопухолевой активности прототипов следующих лекарственных форм: липосомальной лекарственной формы и раствора препарата в масле с ДМСО.

Материалы и методы. Липосомальную лекарственную форму готовили методом гидратации тонкой липидной пленки с одновременным включением Цифетрелина в липидный бислой. Липосомы измельчали методом экструзии и стерилизовали фильтрацией. Раствор Цифетрелина в масле готовили ex tempore путем растворения лекарственного вещества в ДМСО и последующего смешивания со стерильным оливковым маслом (содержание ДМСО не более 10%).

Лекарственные формы тестировали на перевиваемых моделях опухолей мышей: раке шейки матки РШМ-5 и аденокарциноме молочной железы Са-755. Оценивали торможение роста опухоли (ТРО%).

Результаты. Для липосомальной лекарственной формы на Са-755 и РШМ-5 при внутривенном введении в дозе 20-40 мг/кг показан выраженный эффект – 70-80% ТРО, который в течение последующих двух недель после окончания лечения снижался до 40–50% ТРО. Для раствора цифетрелина в ДМСО и масле на Са-755 при подкожном введении в дозе 70 мг/кг показан выраженный эффект – 85% ТРО, который в течение последующих двух недель после окончания лечения снижался до 35% ТРО.

Выводы. Представляется целесообразным продолжить работу по двум лекарственным формам: липосомальная лекарственная форма цифетрелина для внутривенного введения и раствор цифетрелина в масле для подкожного введения. Работа по установлению терапевтических доз продолжается.

Е.В. Тазина, А.П. Полозкова, Е.В. Игнатьева,
О.Л. Орлова, Н.А. Оборотова
**ВЛИЯНИЕ РАЗМЕРОВ ТЕРМОЛИПОСОМ
НА ВКЛЮЧЕНИЕ ДОКСОРУБИЦИНА**
ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Введение. Одним из важных физических параметров, определяющих поведение липосом в живых системах, является их размер.

Размер везикул также влияет на стабильность липосомальных препаратов во время хранения.

Цель исследования. Изучение влияния размеров термолипосом (ТЛ) на включение в них доксорубина (Докс).

Материалы и методы.

ТЛ получали из:

1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфохолина (DPPC);

1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфохолина (DSPC),

пегилированного

1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламина (DSPE-PEG-2000 аммониевая соль);
холестерина

в молярном соотношении

9:1:0,02:0,2.

Приготовленную дисперсию мультиламеллярных везикул делили на две порции:

одну экструдировали через поликарбонатные мембраны (Whatman) с размером пор 200 нм (ТЛ-200),
другую – через мембраны с размером пор 200 нм и 100 нм (ТЛ-100)

– при 50 °С с помощью ручного мини-экструдера Avanti Mini-Extruder.

Докс загружали в ТЛ против градиента сульфата аммония при 50 °С в течение 1 ч.

Для разделения Докс-ТЛ от не включившегося Докс использовали метод гель-фильтрации на хроматографической колонке С 10/20, заполненной сефадексом G 50 (Amersham Biosciences).

Оценку эффективности включения Докс в ТЛ проводили спектрофотометрически при λ 252 нм в течение трех дней. Диаметр везикул измеряли на приборе Nicomp-380 Submicron Particle Sizer.

Результаты. Размеры везикул и включение Докс в ТЛ-200 и ТЛ-100 представлены в таблице.

Как видно из таблицы, в ТЛ-200 включилось больше Докс, чем в ТЛ-100.

На вторые и третьи сутки включение Докс в ТЛ-200 увеличилось на 3,0 % и 4,0 %, соответственно.

В то же время, включение Докс в ТЛ-100 на вторые и третьи сутки уменьшилось на 1,2 % и 2,6 %, соответственно. Предположительно, из более мелких ТЛ Докс с течением времени вытекает.

Выводы. Таким образом, для получения препарата с наибольшим включением Докс в ТЛ экструзию ТЛ желательно проводить через поликарбонатные мембраны с диаметром пор 200 нм.

Таблица

Размеры везикул и включение Докс в ТЛ-200 и ТЛ-100

ТЛ	Первые сутки		Вторые сутки		Третьи сутки	
	Размер везикул	Включение Докс в ТЛ	Размер Везикул	Включение Докс в ТЛ	Размер везикул	Включение Докс в ТЛ
ТЛ-200	158 ± 7 нм	89,3 %	160 ± 7 нм	92,3 %	161 ± 7 нм	93,3 %
ТЛ-100	125 ± 4 нм	88,7 %	125 ± 3 нм	87,5 %	130 ± 6 нм	86,1 %

Е.В. Тазина, Е.В. Игнатьева, И.В. Ярцева, О.Л. Орлова, Н.А. Оборотова

**ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА
ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ
ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ФОСФОЛИПИДОВ И ДОКСОРУБИЦИНА
В ТЕРМОЗАВИСИМОЙ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ
ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ**

ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Введение. В ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН разработана новая термозависимая липосомальная лекарственная форма доксорубицина (ТЛЛФ Докс).

Наиболее значительными по массе компонентами ТЛЛФ являются Докс и фосфолипиды – 1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфохолин (DPPC), 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфохолин (DSPC).

Для качественного анализа состава ТЛЛФ Докс применен метод хроматографии в тонком слое (ТСХ), отличающийся простотой и экспрессностью.

Цель исследования. Определение фосфолипидов и Докс в ТЛЛФ методом ТСХ.

Материалы и методы. ТСХ проводили на пластинках «Sorbfil» 10×10 см (подложка – алюминиевая фольга) и «Silica gel 60 F 254» 10×20 см, Merck KGaA (подложка – стекло).

Использовали системы растворителей:

хлороформ–метанол–вода (65:25:4), (65:30:5), (75:25:4), (80:20:3) (I);

хлороформ–метанол–аммиак (60:35:5) или (65:25:4) (II);

хлороформ – метанол – ледяная уксусная кислота – вода (25:15:4:2), (50:25:8:4), (60:50:1:4), (80:20:14:6), (90:40:12:2) (III).

Содержимое флакона ТЛЛФ Докс растворяли в 2 мл метанола и через 1–2 ч раствор профильтровывали через складчатый фильтр. На хроматографическую пластину наносили по 20 мкл образца ТЛЛФ Докс и стандартных образцов веществ–свидетелей. Пластины с нанесенными пробами выдерживали на воздухе в течение 5–10 мин, затем помещали в камеру, предварительно насыщенную одной из вышеуказанных смесей растворителей в течение 2–3 ч, и хроматографировали восходящим способом. Пластины проявляли парами йода. Пятна фосфолипидов идентифицировали по желтой окраске, а пятно Докс – по характерной красной окраске.

Результаты. Показано, что во всех перечисленных системах растворителей фосфолипиды (DPPC и DSPC) имели практически одинаковые R_f и при хроматографировании лекарственной формы определялись одним пятном.

В системе II хлороформ–метанол–аммиак наблюдали четкое разделение фосфолипидов (R_f около 0,2) и Докс (R_f около 0,4–0,5).

В системе III хлороформ–метанол–ледяная уксусная кислота–вода также получили четкое разделение фосфолипидов (R_f от 0,14 до 0,4) и Докс (R_f от 0,4 до 0,7) в зависимости от соотношения компонентов системы.

Наименее удачной оказалась система I хлороформ метанол–вода, в которой фосфолипиды и Докс не разделялись.

Выводы. Для определения фосфолипидов и Докс в ТЛЛФ методом ТСХ могут быть рекомендованы следующие системы

хлороформ – метанол – аммиак

хлороформ – метанол – ледяная уксусная кислота – вода.

Работа выполнена в рамках программы

«Участник Молодежного научно-инновационного конкурса».

О.В. Хугаева, А.П. Полозкова, Е.В. Тазина, М.А. Кортава, Н.А. Оборотова, А.Ю. Барышников, И.И. Краснюк

**РАЗРАБОТКА ОПТИМАЛЬНОГО СОСТАВА
СТЕРИЧЕСКИ СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ
ЛИПОСОМ,
ЗАГРУЖЕННЫХ МИТОКСАНТРОНОМ**

ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Побочные эффекты противоопухолевых препаратов преимущественно связаны с их неселективным действием, т.к. кроме злокачественных клеток цитостатики захватываются клетками здоровых тканей с наиболее интенсивным метаболизмом.

Для снижения токсичности и повышения селективного воздействия препарата на опухолевые клетки продолжается поиск новых способов доставки лекарственного вещества клеткам-мишеням. В настоящее время наиболее широко исследуются липосомальные лекарственные формы.

Цель исследования. Разработка оптимального состава липосом с митоксантроном, позволяющих увеличить селективность противоопухолевого действия препарата.

Материалы и методы. Яичный фосфатидилхолин (PC), пегилированный дистеароилфосфатидилэтаноламин (mPEG-2000-DSPE) фирмы Lipoid; холестерин (Chol) (Sigma); митоксантрона гидрохлорид (ICN Biomedicals, Inc).

Липосомы получали методом обращения фаз с молярным соотношением липидов PC, Chol, ПЭГ-липид 11 : 9 : 1 соответственно. Липидную пленку смывали водным раствором митоксантрона с концентрацией 1 мг/мл. Весовое соотношение митоксантрон : липиды составило 1 : 42. Полученную липосомальную дисперсию озвучивали в течение 15 мин., затем пропускали последовательно через поликарбонатные мембраны с диаметром пор 200 и 100 нм (Nuclepore) с помощью мини-экструдера (Avanti Polar Lipids), после чего дисперсию подщелачивали буфером (10 mM HEPES + 140 mM NaCl) до pH 7,8. Анализ среднего диаметра везикул и стандартное отклонение их распределения проводили на приборе Submicron Particle Sizer Nicomp-380 (США). Для разделения включенного и не включенного в везикулы препарата использовали метод гель-фильтрации на хроматографической колонке C10/20 (GE Healthcare, Великобритания) с сефадексом G-50 (элюент – 0,15M NaCl). Содержание митоксантрона в липосомах определяли методом спектрофотометрии при λ 242 ± 2 нм.

Результаты. В результате исследований получены моноамеллярные липосомы с размером 160–175 нм. Содержание митоксантрона в 1 мл липосомальной дисперсии 0,865 мг/мл. Включение митоксантрона в липосомы оказалось около 78,7 %.

Выводы. Таким образом, на основании проведенных исследований получены липосомы с высокой степенью загрузки митоксантроном.

Чан Тхи Хай Иен¹, А.П. Полозкова², Е.В. Тазина², В.М. Печенников¹, Н.А. Оборотова², А.П. Арзамасцев¹

**РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОЧИСТКИ
ЛИПОСОМ С ВОДОРАСТВОРИМЫМ
ФС ФОТОДИТАЗИНОМ
ОТ НЕВКЛЮЧИВШЕГОСЯ ПРЕПАРАТА**

¹ММА им. И.М. Сеченова, Москва

²ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Введение. В последние годы широко изучаются липосомы как средство для введения и доставки фотосенсибилизатора с целью повышения эффективности лечения и снижения токсичности препарата в фотодинамической терапии.

Одним из факторов, определяющих эффективность технологии получения липосомальной лекарственной формы водорастворимого препарата, является процент его включения в липосомы.

Цель исследования. Разработка методики очистки липосом с инкапсулированным фотодитазинном на хроматографической колонке для определения эффективности включения препарата в липосомы.

Материалы и методы. Липосомы с инкапсулированным фотодитазинном очищали от невключившегося препарата методом гель-фильтрации на колонке С 10/20 (GE Healthcare, Великобритания), заполненной сефадексом G 50. Процесс очистки контролировали с помощью детектора UVIS-920 с λ 215 нм (Amersham Biosciences, Швеция) и самописца (REC-111 Amersham Biosciences).

В качестве элюентов использовали фосфатный буфер (рН 6,86) и тетраборатный буфер (рН 9,18). На выходе из колонки получали две фракции и измеряли их оптическую плотность на спектрофотометре при λ 662 нм с последующим расчетом процента включения препарата в липосомы.

Результаты. При элюировании липосом с фотодитазинном фосфатным буфером с нейтральным значением рН получено хорошее разделение между пиком очищенных липосом и пиком невключившегося препарата, свидетельствующее о полном разделении липосомального фотодитазина и субстанции препарата. При этом включение фотодитазина в липосомы составило 45,4 %. При использовании в качестве элюента тетраборатного буфера самописец выдавал нечеткое разделение между пиками с инкапсулированным фотодитазинном и субстанцией препарата. В результате было невозможно отследить конец первой и начало второй фракции, вследствие чего включение составило 40,1%.

Вывод. Для очистки липосом с водорастворимым фотосенсибилизатором фотодитазинном от невключившегося препарата методом гель-фильтрации целесообразно использовать в качестве элюента фосфатный буфер с рН 6,68.

А.А. Панкратов¹, Р.И. Якубовская¹, Т.Н. Андреева¹, Ю.Б. Венедиктова¹, В.И. Чиссов¹, А.В. Бутенин¹, Б.Я. Коган², Г.Н. Ворожцов², А.Р. Кауль³, В.М. Рудой⁴, О.В. Дементева⁴, М.Е. Карцева⁴, М.А. Филлипенко⁴.

ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ НАНОЧАСТИЦ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ОНКОЛОГИИ

¹МНИОИ им. П.А.Герцена, Москва

²ФГУП ГНЦ НИОПИК, Москва

³МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва

⁴ИФХиЭХ им. А.Н.Фрумкина, Москва

Целью настоящей работы являлось разработка подходов к изучению на экспериментальных моделях *in vivo* наночастиц органической и неорганической природы, предназначенных для лечения злокачественных новообразований в таких методах противоопухолевой терапии как ГП, ФДТ и ХТ.

Исследование проводили на интактных животных и животных с опухолями (саркома S-37, карцинома C-26, меланома B-16). В экспериментах по изучению противоопухолевой эффективности в методах гипертермии использовали наночастицы на основе сульфированного углерода (C_{SO3}), коллоидного золота (Au₀) и серебра (Ag₀), манганитов (МГ) и фталоцианинов (алюминия (PcAl), цинка (PcZn), меди (PcCu), кобальта (PcCo), а также безметалльного фталоцианина (H₂P), а при методе ФДТ – на основе фталоцианинов со свойствами фотосенсибилизаторов (PcAl, PcZn, H₂Pc).

В терапевтических экспериментах установлено, что эффективность ГП и ФДТ при использовании наноча-

стиц в качестве сенсibilизаторов зависит от природы и структуры, формы, размера наноконструктов, их дозы, а также параметров физического воздействия. Особо важным являлся интервал времени между введением наночастиц и проведением физического воздействия, который обусловлен особенностями фармакокинетики исследуемых наночастиц. Высокая эффективность ГП была выявлена при использовании в качестве термосенсибилизаторов наночастиц на основе PcAl, PcZn, CuPc, H₂Pc и Ag₀, а ФДТ – при использовании наночастиц фталоцианиновой природы со свойствами фотосенсибилизаторов: PcAl, PcZn и H₂Pc. У животных наблюдали длительное торможение роста опухоли на 100–60% и излеченность от опухоли в 10–100% случаев. Полученные данные свидетельствуют о необходимости изучения терапевтической эффективности этих методов лечения с использованием наночастиц только в мультипараметрической системе с учетом физико-химических свойств наноконструктов, определяющих их биораспределение и эффективность терапии. Особенностью наночастиц является то, что они плохо подвергаются метаболической трансформации и медленно выводятся из организма. Поэтому важным является оценка их безопасности с определением органов-мишеней, в которых происходит накопление наночастиц (фармакокинетические исследования), а также изучение их общетоксических свойств и специфических видов токсичности с длительным (не менее 2,5 лет) периодом наблюдения за животными. Нами начато изучение безопасности наночастиц органической и неорганической природы в острых и хронических экспериментах на животных. В опытах по изучению «острой» токсичности отмечена хорошая переносимость наночастиц (размером от 100 до 200 нм) при их использовании в высоких дозах – до 600 мг/кг.

Работа выполнена при финансовой поддержке Правительства г. Москвы.

И.В.Ярцева, Е.В.Игнатъева, Л.Г.Гатинская, П.А.Чельцов

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦИКЛОПЛАТАМА В СУБСТАНЦИИ ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н.БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Циклоплатам – высокоэффективный отечественный противоопухолевый препарат второго поколения из класса комплексных соединений платины, разрешенный для применения при раке яичников, мезотелиоме плевры и множественной миеломе.

Цель исследования. Показать, что методика количественного определения циклоплатама, позволяет достоверно определять содержание основного действующего вещества и корректно контролировать качество субстанции препарата «циклоплатам».

Материалы и методы. Валидация метода проведения по результатам анализа пяти серий препарата, отличающихся содержанием в них воды и временем выпуска.

Результаты. Для количественного определения циклоплатама предложен весовой метод, основанный на термическом разложении препарата до металлической платины. Валидация метода проведена по следующим параметрам:

правильность,
воспроизводимость,
точность,
линейность результатов.

Стандартное отклонение, доверительный интервал определения и относительная ошибка результата составили: S=0,23; $\chi=0,22$; $\pm 0,23\%$ (P=95%), соответственно. Численное значение коэффициента нормированных отклонений (коэффициента Стьюдента), рассчитанное по результатам двух выборок составило 1,01.

Табличное значение коэффициента Стьюдента при 95%-ной доверительной вероятности и степени свободы $f=5$ равно 2,57, т.е. $t_{\text{выч.}} = t_{\text{табл.}} (95\%, 5)$.

Это позволяет нам считать, что итоговые результаты, полученные данным методом, не отягощены систематической ошибкой.

Расчеты показывают, что истинное значение определяемой величины (количественное содержание циклопласта) с доверительной вероятностью $P=95\%$ в единичном определении находится в интервале $x \pm 0,54\%$, а для среднего значения $\bar{x} \pm 0,31\%$.

При статистической обработке данных, полученных двумя разными аналитиками, рассчитано, что критерий Фишера равен $F_{\text{выч.}} = 4,76 < F_{\text{табл.}} (99\%, 5, 5) = 10,97$, т.е. методика анализа воспроизводима. Метод линеен: результаты хорошо описываются зависимостью $y = 0,42x + 0,02$; коэффициент корреляции равен 0,9995.

Выводы. Проведенная валидация гравиметрического метода количественного определения циклопласта в субстанции показала, что метод позволяет получать достоверные результаты, обладает высокой точностью и воспроизводимостью.

РАСТИТЕЛЬНЫЕ ПРЕПАРАТЫ

С.М. Адекенов¹, А.К. Сариев², Х.И. Итжанова¹,
А.Н. Жабаева¹, Л.И. Арыстан¹, В.П. Жердев²

ИЗУЧЕНИЕ

ОТНОСИТЕЛЬНОЙ БИОДОСТУПНОСТИ
КАПСУЛИРОВАННОЙ ФОРМЫ АРГЛАБИНА

¹АО НПЦ Фитохимия, Караганда, Казахстан

²НИИ фармакологии им. В.В. Закусова РАМН, Москва

Задачи исследования. Изучение относительной биодоступности капсулированной ЛФ арглабина.

Материалы и методы. Исследование проведено на 8 кроликах-самцах массой тела 2,8–0,2 кг. В случайном порядке животным с помощью зонда внутрь вводили нативный арглабин в капсулах или субстанции (суспензия в 1%-ном крахмальном клейстере), а затем, спустя 7 дней – наоборот. Отбор плазмы крови производили из ушной краевой вены в следующие дискретные интервалы времени: 0,0; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 и 4,0 ч. Экстракцию арглабина из плазмы крови проводили диэтиловым эфиром. Количественное определение арглабина в биологических образцах проводилось методом ВЭЖХ. Основные фармакокинетические параметры ($AUC_{0-\infty}$, T_{max} , $C_{\text{max}}/AUC_{\infty}$, MRT , $t_{1/2el}$, f_0) рассчитаны моделью-независимым методом (программа «M-IND»).

Результаты. Сравнительный анализ основных фармакокинетических параметров арглабина показал, что изучаемое соединение всасывается из ЖКТ с различной скоростью. Субстанция арглабина всасывается из ЖКТ в 1,62 раза быстрее, чем при введении в виде капсулы ($C_{\text{max}}/AUC_{0-\infty}$ для субстанции 1,072–0,229; для капсул – 0,660–0,179 ч⁻¹). Время достижения максимальной концентрации (t_{max}) составило в среднем для субстанции 0,72–0,21 ч.; для капсул – 1,56–0,32 ч. То есть, арглабин из капсулы всасывается в 2,17 раза медленнее, чем при введении в виде субстанции. Необходимо также отметить: между сравниваемыми ЛФ арглабина существует значимое достоверное различие в параметрах полупериода элиминации препарата ($T_{1/2el}$) и среднего времени удерживания молекулы вещества в организме (MRT). В случае введения арглабина в виде капсулы препарат в 2,94 раза ($T_{1/2el}$) и 1,7 раза (MRT) дольше выводится из организма по сравнению с теми же параметрами субстанции. Относительная биологическая доступность (f) арглабина, определяемая отношением индивидуальных значений $AUC_{0-\infty}$ и доз составляет для капсулы по отношению к субстанции в среднем 410,79–276,30 %. Высокую относительную биодоступность арглабина и его замедленное всасывание можно объяснить кислотоустойчивостью капсул, предотвращающей деградацию субстанции в кислой среде желудка и как следствие более полным всасыванием исходного соединения из кишечного тракта в системный кровоток.

Вывод. Выявлена высокая относительная биодоступность капсул арглабина нативного в сравнении с субстанцией (410,79–276,30 %).

Н.В. Бочкова¹, А.Х. Досаханов², В.Б. Сирота¹,
Л.Е. Муравлева¹, Д.С. Кусаинова¹

ОСОБЕННОСТИ ТЕЗИОГРАФИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ
ПЛАЗМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ПИЩЕВОДА
ПРИ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ С АРГЛАБИНОМ

¹КГМА, Караганда, Казахстан

²ННМЦ МЗ РК, Астана, Казахстан

Задачи исследования. Изучение тизиографической картины плазмы крови больных раком пищевода (РП) при лучевой терапии (ЛТ) с арглабином.

Материалы и методы. Объектом исследования являлась кровь 15 больных РП в возрасте от 51 до 74 лет, находившихся на лечении в ГККП «ООД». Из них 12 мужчин, 3 женщины. Среди пациентов у 14 был диагностирован РП III стадии, у 1 – IV стадии. Все больные получали ЛТ динамическим фракционированием дозы: первые 3 дня РОД – 4,5 Гр, далее методом мультифракционирования: РОД – 1,2 Гр 2 раза в день с интервалом в 4,5 ч до СОД, эквивалентной 60–80 Гр классического фракционирования. Забор материала производился утром натощак до проведения курса ЛТ. 8 больным ежедневно перед ЛТ вводили в/в 2%-ный раствор арглабина из расчета 185 мг/м², суммарная доза препарата варьировала от 4 000 до 9 000 мг (15 введений). Тезиограммы ставили по методу В.Н. Шабалина и С.Н. Шатохиной.

Результаты. Тезиограмма плазмы крови больных РП имеет специфические элементы по сравнению с таковой плазмы здорового человека. Радиальные трещины меняют направленность по окружности, могут иметь конкреции правильной и неправильной формы; конкреций может быть много или мало. После ЛТ тезиограмма имеет особенности: капля по-прежнему не принимает округлой формы, количество амёбовидных выпячиваний в 2–3 раза меньше, трех зон, в которых сохраняются листовидные растрескивания, в 4 раза меньше; количество секторов и отдельных прилизов к норме; конкреции приобрели округлую форму и расположены асимметрично. Особенности тезиограммы плазмы на фоне ЛТ с арглабином: фация структурирована, наблюдаются краевая, центральная и не полностью промежуточная зона; центральная зона разбита радиальными трещинами, но нет четкого центра, радиальные трещины ветвятся друг от друга; отдельные очень большие (в одной радиальной трещине может быть всего от 3 до 6 отдельных); конкреции в отдельности занимают всю площадь, следовательно, их не окружает белковое кольцо.

Выводы. Эти особенности тезиограммы плазмы крови больных РП на фоне ЛТ с арглабином обусловлены снижением интоксикации продуктами распада опухолевой ткани, снижением количества тяжелых молекул, липопротеинов, липидов, белков с низкой градиентной плотностью (альбумин, церулоплазмин и т.д.), присутствием нормального количества белков с высокой градиентной плотностью (гамма-глобулины).

В.П. Дерягина, Н.И. Рыжова, Е.Е. Антошина,
Т.Г. Горькова

ДЕЙСТВИЕ БИОАКТИВНЫХ КОМПОНЕНТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА РОСТ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА У МЫШЕЙ ПОД КОНТРОЛЕМ

ЭНДОГЕННОГО ОБРАЗОВАНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ ОКСИДА АЗОТА

ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Введение. Экспериментальные и эпидемиологические данные подтверждают превентивную роль в онкогенезе ряда веществ (флавоноидов, индолов, полисахаридов и др.), содержащихся в овощах и фруктах. Ранее нами было показано, что рост карциномы Эрлиха (КЭ) сопровождается усилением эндогенного образования оксида азота и его производных, нитратов (НА) и нитритов (НИ), количество которых увеличивается в прямой зависимости от размера опухоли. Учитывая антиоксидантные свойства изучаемых веществ, можно ожидать, что в условиях их регулярного введения мышам с опухолями будет подавлено образование реакционного NO и, одновременно, снижена скорость роста опухоли.

Цель исследования. Экспериментальное изучение влияния флавоноидов, индолов и разных форм микроводоросли спирулины на рост КЭ под контролем эндогенного образования NO.

Материалы и методы. Исследования проведены на 100 мышках СВА/Лас и F₁[(C57Bl СВА)] массой тела 22–24 г разведки питомника «Столбовая» РАМН. Мыши были разделены на 10 групп, 2 из которых служили контролем. КЭ имплантировали п/к по 10⁶ клеток на мышь, срок наблюдения 24 дня. Изучаемые вещества: флавоноиды (Фл) – Пикногенол (Пг, «Biolandes», Франция), препарат из виноградных косточек, стандартизованный по содержанию олигомерных проантоцианидинов (ВК, «La Gardonnenque»), Диквертин (Дк, «Флавир»), фенольные кислоты – галловая (ГК, «Fluka») и таниновая (ТК, «Sigma»), индол-3-карбинол (И-3-К, «Sigma»), спирулина (Сп, *Arthospira platensis*) и спирулина, обогащенная селеном (Сп-Se, ООО «Агро-Виктория»). Вещества в виде водной суспензии вводили мышам *per os* в течение 14–21 дня до перевивки КЭ и после нее до конца опыта. ТРО рассчитывали по средним объемам и по массе опухоли в % по отношению к контролю. Количественную оценку эндогенного образования НА и НИ по выделению их с суточной мочой проводили на 14–21 дни методом Грисса; антиоксидантную активность веществ изучали хемилюминесцентным методом.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием критерия Стьюдента.

Результаты. Показано, что 100 мг/кг ГК, 100 мг/кг ТК, 1 г/кг Сп и 1 г/кг Сп-Se увеличивали в 1,4–1,6 раз ($p < 0,01–0,05$) латентный период формирования опухолевых узлов и выражено ингибировали рост КЭ при многократном введении веществ. Максимальные значения эффективности по ТРО на ранних сроках наблюдения составили для ГК, ТК, Сп и Сп-Se соответственно 91 %, 78 %, 75 % и 89 % ($p < 0,01–0,05$). Пг в дозе 150 мг/кг и И-3-К в дозе 75 мг/кг достоверно тормозили рост КЭ соответственно на 52 % и 56 % ($p < 0,01$). Статистически значимое ТРО поддерживалось только при действии Пг или ГК, что привело к достоверному уменьшению массы опухоли на 31 % ($p < 0,01$) и 27 % ($p < 0,05$) соответственно. Обогащение селеном на 14 % повышало эффективность ингибирующего действия Сп в отношении КЭ. Препарат из ВК достоверно стимулировал на 45 % ($p < 0,05$) рост КЭ на фоне повышенной продукции NO. Из 8 испытанных веществ только ГК снижала на 34 % образование НА и НИ, в то время как Пг, Дк, ВК, ТК и Сп стимулировали их образование на 14–65 %. Отсутствие эффекта антиоксидантов по отношению к эндоген-

ному образованию NO на этапе контроля НС у мышей опытных групп возможно из-за ускорения роста опухолей, сопровождающееся интенсификацией радикальных процессов, в том числе гиперпродукцией NO.

Заключение. ГК, ТК, Сп, Сп-Se, Пг и И-3-К ингибируют рост КЭ и могут рассматриваться в качестве перспективных соединений для более полного изучения их действия на опухолевый рост с целью применения в онкопрофилактике. Поскольку большинство изученных веществ стимулировали эндогенное образование производных NO у мышей с КЭ на этапе ускоренного роста опухоли, представляется важным изучение его образования на этапе торможения роста опухоли.

А.Б. Капитанов¹, П.А. Капитанов², М.Я. Шапкина¹,
А.В. Сергеев¹

БИОДОСТУПНОСТЬ ЛИКОПИНА

ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

¹Icon Holding, Дублин, Ирландия

Введение. Ликопин является природным каротиноидом, широко распространенным в растительном мире. Наибольшее его количество содержится в красных и оранжевых овощах и фруктах, особенно в плодах томатов. Ликопин в организме человека не синтезируется, а его содержание в крови и тканях определяется поступлением с пищей. Проведенные к настоящему времени эпидемиологические исследования показывают обратную зависимость частоты приема ликопинсодержащих овощей и распространение рака той или иной локализации. В настоящее время можно считать доказанной антиканцерогенную активность ликопина. Рамки проведения доклинических испытаний новых лекарственных препаратов требуют проведения оценки активного начала по фармакокинетическим параметрам. Однако данные литературы по фармакокинетике ликопина у животных довольно скудны.

Цель исследования. Оценить биодоступность ликопина как активного начала нового потенциального антиканцерогенного отечественного препарата.

Материалы и методы. Фармакокинетiku ликопина изучали на кроликах самцах «шиншилла» массой 3,2–4,2 кг. Препарат вводили однократно перорально в виде масляного раствора в дозе 500 мг по ликопину. Пробы крови отбирали из краевой ушной вены животных через каждые два часа в течение 36 ч после введения препарата. Для построения внешней калибровочной кривой использовали стандартные растворы кристаллического ликопина. Процент извлечения ликопина из плазмы крови составил 70,5–4,5 %.

Установлено, что эндогенные компоненты плазмы крови не мешают определению концентрации ликопина. Концентрации ликопина в плазме крови определяли хроматографически. Использовали хроматографическую систему Perkin Elmer Nelson, Model 1020. Колонка Диасорб С₁₆ Т 6 мкм (3–150). Подвижная фаза:

метанол : ацетонитрил : тетрагидрофуран (60:30:10).

При изучении скорость потока элюента 1,5 мл/мин, давление 2000 psi; температура 22 °С; детектирование ликопина 460 нм, объем анализируемой пробы 20 мкл. Время удерживания для ликопина 4,2 мин. Чувствительность 5 нг/мл. Количество ликопина определяли методом нормализации по данным прямой калибровки, используя площади хроматографических пиков. Фармакокинетические параметры рассчитаны методом статистических моментов с использованием программы M-IND.

Результаты. Анализ профилей фармакокинетических кривых показал, что процессы всасывания, распределения и элиминации могут быть описаны двухкамерной моделью, что говорит о возможности перераспределения изучаемого вещества из плазмы крови в органы и ткани, обладающие выраженной липотропностью.

После перорального введения ликопина невысокие концентрации изучаемого вещества регистрировали в плазме крови лишь через 2 ч. Препарат достаточно медленно всасывался, достигая максимальной концентрации к восьмому часу, при этом отмечен значительный индивидуальный разброс в достижении максимальных значений концентраций (10,8–47,7 нг/мл).

Через 36 ч после начала опыта ликопин в плазме крови не регистрировался. Значительный межиндивидуальный разброс значений концентраций препарата на фазе всасывания объясняется тем, что всасывание ликопина начинается и происходит в двенадцатиперстном и тонком кишечнике при pH > 7,0. Большие значения величины кажущегося клиренса говорят о низких концентрациях ликопина, регистрируемых в различные интервалы времени, что, в свою очередь можно объяснить эффектом «первого прохождения через печень».

Анализируя величины объема распределения, необходимо отметить, что большие значения полученного параметра указывают на способность ликопина к кумуляции в периферических органах. Среднее время удерживания ликопина в организме составило 13,5 ± 0,85 ч, а время полувыведения – 6,2 ± 0,9 ч.

Выводы. Среднее время достижения максимальной концентрации ликопина в плазме крови кроликов составляет 8 ч, средняя величина – 21,4 нг/мл. Ликопин подвергается интенсивной биотрансформации, что определяется высокими значениями кажущегося клиренса.

Большая величина кажущегося объема распределения ликопина указывает на его липофильность и, соответственно, способность к кумуляции этого вещества в органах и тканях.

А.Б. Капитанов¹, П.А. Капитанов², И.Р. Просалкова¹
ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ЛИКОПИНА

¹ГУ РОНЦ им. Н.Н.БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

²Icon Holding, Дублин, Ирландия

Введение. В настоящее время показано, что ликопин обладает антиканцерогенной активностью. Важно отметить, что ликопин в организме животных и человека не синтезируется и накапливается в тканях в зависимости от потребления пищевых продуктов. При этом ликопин, в отличие от β -каротина, не превращается в витамин А. Нами разработан новый антиканцерогенный ликопинсодержащий препарат, получаемый из плодов томатов – Томатол[®]. Очевидно, что при разработке новых лекарственных композиций необходима оценка их острой и хронической токсичности.

Цель исследования. Оценить токсичность ликопина как активного начала нового отечественного антиканцерогенного препарата.

Материалы и методы. Опыты по изучению «острой» токсичности Томатола[®] проводили на беспородных мышках обоего пола массой тела 18–20 г и крысах массой тела 200–220 г. По прохождении 2-недельного карантина животных содержали в виварии в стационарных условиях, со свободным доступом к воде и сбалансированному по питательности брикетированному комбикорму. Исследование было проведено в весеннее (март) и осеннее (октябрь) время.

Препарат вводили через зонд per os и внутривентриально в дозах 100; 200; 1000; 2000; 4000 и 10000 мг Томатола[®]/кг (1; 2; 10; 20; 40 и 100 мг ликопина/кг).

Дальнейшее увеличение дозы было затруднительным в силу технических причин. Контрольным животным вводили в том же объеме оливковое масло. Количество животных в опытных (на каждую дозу) и контрольных группах равнялось десяти.

Результаты. В ходе исследований общей продолжительностью 2 нед. установлено, что Томатол[®] в указанных дозах, большая из которых (100 мг ликопина/кг)

превышает терапевтическую в 100 раз, не вызывает клинических признаков интоксикации экспериментальных животных и их гибели. Ни в первый день после введения соответствующей дозы препарата, ни в последующие не было отмечено особенностей в общем состоянии животных, их поведении, интенсивности и характере двигательной активности, координации движений, состоянии волосяного и кожного покровов, окраске слизистых оболочек. Гематологические показатели а также активность печеночных трансаминаз, в опытных группах не отличались от контрольных. Консистенция фекальных масс, потребление корма и воды, изменение массы тела в опытных группах также не отличались от контрольных. Вскрытие и визуальный осмотр внутренних органов, проведенные по истечению двухнедельного периода наблюдения, отклонений от нормы не обнаружили.

Выводы. Таким образом, на основании проведенного исследования «острой» токсичности и в соответствии с общепринятой классификацией можно заключить, что ликопин относится к препаратам пятой категории токсичности и является практически нетоксичным.

Э.Л. Кристаллов¹, М.Б. Овчаров¹, А.А. Титов¹, И.В. Воробьев¹, Л.Г. Воскресенский², В.Н. Осипов³

СИНТЕЗ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АРТЕМИЗИНИНА И ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

¹ООО Лаборатории НГХ, Москва

²РУДН, Москва

³ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Введение. Пристальное внимание к артемизинину, сесквитерпеновому лактону полыни горькой *Artemisia annua*, и его производным (таким как дигидроартемизинин, метиловый эфир дигидроартемизинина, артезунат, артезуниновая кислота) в значительной мере вызвано их высокой антималярийной активностью. Исследования показали значительную цитотоксическую активность артемизинина. Существенным недостатком артемизинина является его низкая растворимость в воде и масле, чувствительность к гидролитическому воздействию. В связи с этим возникает необходимость поиска новых производных артемизинина с более эффективными фармакологическими и фармакокинетическими характеристиками.

Цель исследования. Химическая модификация молекул производных сесквитерпенового лактона артемизинина, определение острой токсичности, изучение цитотоксической активности полученных соединений.

Материалы и методы. Модификация производных артемизинина проводилась по 3 основным направлениям: синтез производных дигидроартемизинина по атому C₁₂, синтез амидов артезуната и синтез замещенных 11-азоартемизининов. По 1 направлению осуществлены реакции ацилирования и алкилирования дигидроартемизинина. Амиды артезуната получены методом активированных эфиров с синтезом пентафторфенилового эфира артезуната в качестве промежуточного продукта.

Результаты. В результате химической модификации молекул производных артемизинина было получено 54 новых соединения: 19 производных дигидроартемизинина, 34 производных артезуната и одно N-11-азопроизводное артемизинина. Изучение острой токсичности проводили на белых беспородных мышках обоих полов массой тела 18–20 г. Значения среднесмертельной (LD₅₀) токсичности для полученных соединений находятся в пределах 600–1500 мг/кг. Биоскрининг на цитотоксическую активность на опухолевых клетках толстой кишки человека линии LS174T показывает: все синтезированные производные артемизинина проявляют цитотоксическую активность при концентрации $\approx$ в 2 раза ниже таковой артемизинина и более чем в 5 раз ниже относительно контрольного препарата урацила.

Из общего числа исследованных *in vitro* препаратов по проявлению цитотоксической активности можно выделить вещества с гидрофильными заместителями (с наиболее высоким значением $\log P$).

Выводы. Показано, что направленная химическая модификация позволяет получить более активные вещества с цитотоксической активностью в ряду производных сесквитерпенового лактона артемизинина.

И.И. Мурин¹, В.М. Баева¹, А.М. Козлов²

ВЛИЯНИЕ АГРИМОНИИНА И СУММЫ ПОЛИФЕНОЛОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ТРАВЫ МАНЖЕТКИ, НА ОБЩУЮ ТОКСИЧНОСТЬ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА ЦИКЛОФОСФАМИД

¹ГОУ ВПО ММА им. И.М. Сеченова, Москва

²ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Цель исследования. Изучить влияние агримониина и суммы полифенолов, выделенных из травы манжетки, на общую токсичность циклофосфамида.

Материалы и методы. Исследование проводили на мышах-самцах линии C₅₇Bl/6 массой 23–27 г. В качестве модели опухоли использовали карциному легкого Льюис. Дозы агримониина и полифенолов взяли эквивалентно ранее исследованному настою травы манжетки 1:10, приготовленному по методике ГФХ: агримониин – 10 мг/кг, сумма полифенолов – 10 мг/кг. Животных разделили на 3 группы: мышам 1-й группы ввели внутрибрюшинно однократно циклофосфамид в дозе 450 мг/кг, мышам 2-й – внутрибрюшинно однократно циклофосфамид в дозе 450 мг/кг и 10-кратно перорально водный раствор агримониина по 0,3 мл/мышь (10 мг/кг) с интервалом 24 ч; животным 3-й группы – однократно внутрибрюшинно циклофосфамид в дозе 450 мг/кг и 10-кратно перорально водный раствор суммы полифенолов по 0,3 мл/мышь (10 мг/кг) с интервалом 24 ч. В качестве критериев оценки общетоксического действия терапии использовали показатель СПЖ, изменение массы тела в % к начальной и общее состояние мышей.

Результаты. В ходе проведения эксперимента в 1-й группе животных, получавших только циклофосфамид, 83 % мышей пали спустя, в среднем, 5 дней после введения цитостатика. Во 2-й группе животных, при сочетанном применении циклофосфамида и водного раствора агримониина и в 3-й группе, при сочетанном применении циклофосфамида и водного раствора суммы полифенолов, гибели животных не отмечено. Установлено также, что в течение первой недели после введения препаратов масса тела животных в 1-й группе уменьшилась на 25,2 % по сравнению с первоначальной, во 2-й и 3-й группах – увеличивалась соответственно на 6,4 и 4,4 %.

Выводы. Агримониин и сумма полифенолов травы манжетки снижают общетоксическое действие циклофосфамида. Выживаемость и общее состояние животных в группах, получавших сочетанное лечение водными растворами агримониина и суммы полифенолов намного выше, чем в группе, получавшей монотерапию циклофосфамидом. Биологически активные соединения, выделенные из травы манжетки (агримониин и сумма полифенолов) являются перспективными для дальнейшего изучения в качестве препаратов, снижающих общетоксическое действие цитостатиков.

М.В. Нехорошев, А.В. Бородина, Н.В. Пospelova БУРЫЕ ВОДОРΟΣЛИ – ОСНОВНОЙ И ЕСТЕСТВЕННЫЙ ИСТОЧНИК ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

ИнБИОМ им. А.О. Ковалевского НАН Украины, Севастополь

Бурые макрофиты – самые распространенные водоросли, масса которых превышает запасы всех лесов

планеты. В их состав входят альгиновые кислоты, фукоидан, каротиноиды. Эти соединения в разной степени обладают цитотоксической и противоопухолевой активностью. Наибольший интерес для онкологов представляет главный каротиноид бурых водорослей – фукоксантин, который ингибирует рост *in vitro* клеток GOTO нейробластомы человека, рака предстательной железы, рака толстой кишки и лейкоза крови человека. В некоторых работах показано, что противоопухолевое действие фукоксантина может быть обусловлено апоптогенными свойствами этого соединения. Украинскими исследователями недавно показано, что инкубация клеток МТ-4 ОЛЛ человека в присутствии фукоиданов приводит к повышению их чувствительности к последующей индукции апоптоза стандартным индуктором ингибитором топоизомеразы этопозидом. Фукоксантин обладает цитотоксическим действием на клетки МТ-4, однако, в отличие от фукоиданов, апоптогенный эффект выражен относительно слабо и проявляется в области низких доз препарата. Еще более активным соединением по отношению к клеткам РС-3 человеческого рака простаты является естественный метаболит фукоксантина – фукоксантинол. На 15 симпозиуме по каротиноидам (Окинава, 2008) несколько докладов было посвящено исследованию свойств фукоксантина. Хотя полный синтез фукоксантина был осуществлен в 1994 г., до сих пор это соединение получают из бурых водорослей. В Японии основана фирма по его производству, что позволяет наработку фукоксантина для клинических испытаний. В Украине разработаны альтернативные способы получения этого пигмента из черноморских водорослей и ведутся интенсивные исследования его на противоопухолевую активность.

В.Б. Сирота¹, Г.О. Олжатаева²

ПРИМЕНЕНИЕ АРГЛАБИНА ПРИ ЛТ РАКА СЛИЗИСТОЙ ПОЛОСТИ РТА

¹КТМА, Казахстан

²КТКП КООЦ, Караганда, Казахстан

Задача исследования. Улучшение результатов лечения рака слизистой полости рта путем комбинации ЛТ злокачественных опухолей данных локализаций с арглабином в качестве радиомодификации.

Материалы и методы. ЛТ с арглабином провели 17 больным с впервые установленными диагнозами: рак языка – 6 пациентов; рак слизистой полости рта – 4; рак слизистой ретромолярной области – 2, рак небной миндалины – 3, рак ротоглотки – 2 больных.

I и II стадии опухолевого процесса диагностированы у 11 пациентов, III – у 6. Все больные имели цитогистологическую верификацию рака. Средний возраст составил 56,4 года.

Группу контроля составили 16 больных с аналогичной нозологией, получавшие ЛТ без арглабина. Дистанционная гамма-терапия проводилась в два этапа на аппарате «Рокс АМ» обычным фракционированием дозы по 2 Гр на первичную опухоль и области регионарного метастазирования.

На первом этапе подводилась СОД 40 Гр, перерыв 2 недели до стихания лучевой реакции, на втором этапе СОД доводили до 64–66 Гр. Арглабин ежедневно вводили внутривенно одномоментно медленно из расчета 185 мг/м² за 10–20 мин до сеанса ЛТ. Суммарная доза варьировала от 4000 до 8400 мг. Эффективность комбинированного лечения оценивали по стандартным критериям ВОЗ.

Результаты. Полный регресс опухоли наблюдали в группе больных, получавших на фоне ЛТ арглабин, у 23,5 10,2 % пациентов; в группе больных, получавших ЛТ без арглабина, у 12,5 8,3 % ($p > 0,05$).

Частичный ответ: в группе больных, получавших на фоне ЛТ арглабин, у 52,9 12,1 % пациентов, в группе больных, получавших ЛТ без арглабина, у 18,8 9,8 % ($t=2,2$; $p<0,05$). У 68,8 11,6 % больных, получавших ЛТ без арглабина, произошла стабилизация опухолевого процесса. При использовании арглабина в сочетании с ЛТ не наблюдали анемии и агранулоцитоза, в то время как при ЛТ без арглабина гематологические изменения проявились: анемия в 6,2 3,4 %; лейкопения в 12,5 4,6 % наблюдений; агранулоцитоз в 12,5 4,6 % случаев. Тромбопении не было ни в одной из групп.

Выводы. Наблюдается общая положительная динамика ЛТ у больных раком слизистой полости рта и глотки, получавших при ДГТ арглабин. Необходимо отметить положительную субъективную оценку состояния больных при введении арглабина, что способствует улучшению качества жизни данных пациентов.

Э.Ш. Соломко, Е.В. Степанова, И.Н. Григорьева,
А.Ю. Барышников

ОЦЕНКА АНТИАНГИОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТОВ РАСТЕНИЙ И ИХ ФРАКЦИЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ

ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Введение. Ангиогенез – формирование новых микрососудов из уже существующих в ткани капилляров. Антиангиогенная терапия блокирует формирование новых микрососудов и развитие метастазов в опухоли. Одним из подходов к поиску новых антиангиогенных веществ является изучение свойств растений, используемых в народной медицине.

Цель исследования. Нами были проанализированы антиангиогенные свойства 15 растений, используемых для лечения онкологических заболеваний и ревматизма в России.

Материалы и методы. Исследование проводилось на клеточной линии SVEC-4-10, полученной из эндотелиальных клеток мыши, трансформированной вирусом SV-40. Для определения специфичности действия на эндотелий использовались опухолевые клеточные линии молочной железы (SK-BR-3), яичников (SKOV-3) и другие.

Анализ антиангиогенных свойств *in vitro* включал цитотоксический и антипролиферативный тест (МТТ-тест), анализ ингибирования миграции и формирования трубочкоподобных структур *in vitro*.

Антиангиогенное действие препаратов подтверждался *in vivo* тестом на блокирование ангиогенеза в имплантате матригеля.

Результаты. Было показано, что некоторые экстракты и их фракции обладают цитотоксическим и антипролиферативным действием на эндотелиальные и опухолевые клетки. При проведении исследования было показано влияние различных доз растительных экстрактов и их фракций на ангиогенез *in vitro*.

Исследуя антиангиогенный ответ различных фракций растительных экстрактов, мы получили максимальный эффект при концентрации 0,1 мг/мл.

В данной дозе наблюдалось специфическая гибель эндотелиальных клеток. При более низких концентрациях наблюдалось ингибирование миграции эндотелиальных клеток и формирования трубочкоподобных структур.

Исследования *in vivo* в имплантате Матригеля показали ингибирование ангиогенеза в концентрациях 50 мг/кг и 25 мг/кг.

В дальнейшем планируется изучение антиангиогенных свойств экстрактов растений на опухолевых моделях.

Работа поддержана государственным контрактом Федерального агентства по науке и инновациям № 02.512.11.2195.

Е.В. Уютова¹, О.А. Бочарова², Б.А. Крапивкин³,
О.П. Шейченко¹, О.Н. Толкачев¹, Р.В. Карпова²,
Е.В. Бочаров⁴, В.А. Быков¹

ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ФИТОАДАПТОГЕНА МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

¹ГУ ВИАР, Москва

²ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

³ФГУ ВГНКИ, Москва

⁴ГУ НИИ ОПиП, Москва

В предыдущих исследованиях определена возможность использования ЯМР-, УФ-спектроскопии, хромато-масс-спектрометрии для характеристики комплексного фитоадаптогена и его отдельных компонентов. Целью данной работы явилась инструментальная физико-химическая оценка, контроль и стандартизация фитоадаптогена методом ВЭЖХ. Были исследованы несколько образцов фитокомплекса разных лет изготовления (2005; 2007 годов). Определены условия анализов. Первый этап: система ВЭЖХ STAR, аналитическая колонка Res Elut C18. Подвижные фазы: А – метанол/вода, фаза Б – метанол. УФ-детектирование проводили при 190–367 нм. Второй этап: колонка XBridge. Подвижная фаза: линия А – MeOH (100 %) и H₃PO₄ (0,05 %); линия Б – вода (100 %) и H₃PO₄ (0,05 %). УФ-детектирование проводили при 200–800 нм. Для аминокислотного анализа фитокомплекса использовали систему ВЭЖХ ProStar.

Идентификацию аминокислот и их количественный анализ проводили относительно калибровочной смеси аминокислот. По литературным данным выявлены наиболее часто встречаемые в составе растений, компонентов фитокомплекса, флавоноиды и катехины – аментофлавоны, апигенин, астрагалин, галлокатехин, гиперин, гиперозид, изокверцитрин, изорамнетин, кверцетин, кверцитрин, кемпферол, лютеолин, нарингенин, рутин, скутеллареин, эпигаллокатехин, эпикатехин, катехин. В соответствии с этим выбраны стандартные образцы для ВЭЖХ-исследования.

Идентифицированы флавоноиды гиперозид, рутин, апигенин, кверцетин, нарингенин, лютеолин, лютеолин-7-гликозид, а также сирингин (элеутерозид В), катехин, олеаноловая и глицирризиновая кислоты.

Определена стабильность содержания соединений в течение двух лет. Из 19 обнаруженных аминокислот в наибольшем количестве содержатся пролин, аргинин, аланин, аспарагиновая и глютаминовая кислоты.

Таким образом, проведена качественная и количественная оценка химического состава фитокомплекса в отношении флавоноидов, катехинов и аминокислот методом ВЭЖХ, а также подтверждена его стабильность в течение 2 лет.

А.Е. Хубулова¹, Ф.К. Джисоев¹, А.В. Сергеев²,
М.Я. Шапкина²

АНТИМУТАГЕННЫЕ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА КАСКОРУТОЛА И ЧАГОВИТА

¹СОГМА, Владикавказ

²ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Введение. Каскорутол и чаговит разработаны в РОНЦ в рамках программы «Химиопрофилактика рака». Ранее нами доказана антиканцерогенная активность этих препаратов на модели химически индуцированного диэтилнитрозамином (ДЭНА) рака печени и пищевода крыс.

Каскорутол и чаговит ингибировали канцерогенез, снижали индекс множественности опухолей, удлиняли латентный период появления первой опухоли.

Цель исследования. Изучить в динамике влияние каскорутала и чаговита на процессы мутагенеза и оксидантного стресса, индуцированные ДЭНА.

Материалы и методы. Исследования проведены на крысах-самцах линии Вистар. ДЭНА добавляли к питьевой воде в дозе 100 мг/кг массы тела животных в течение 4 мес. Каскорутол и чаговит вводили в корм из расчета, соответственно 0,4 г/кг 4 раза в неделю и 50 мг/кг ежедневно, начиная за 3 дня до введения ДЭНА и в течение всего эксперимента.

Через 2; 4; 8; 12; 16 нед. животных декапитировали и определяли антимуtagenную активность по количеству хромосомных аберраций в клетках костного мозга в сравнении с контрольной группой. Антиоксидантную активность определяли по концентрации МДА спектрофотометрически в тесте с тиобарбитуровой кислотой. Состояние антиоксидантной защитной системы (АОЗ) – по уровню активности фермента каталазы фотометрическим методом и церулоплазмина – колориметрическим.

Результаты. В контроле ДЭНА повреждал генетический аппарат клетки, ингибировал систему репарации, продуцируя 10–33 % аберраций хромосомного и хроматидного типов в зависимости от времени воздействия и усиливал процессы ПОЛ, концентрация МДА в плазме крови возрастала в 2 – 3 раза. Снижалась активность каталазы в 4–2,5 раза через 2 и 4 недели соответственно, а затем резко компенсаторно возрастала, что приводило к истощению АОЗ и нарушению баланса ПОЛ-АОЗ. Каскорутол и чаговит достоверно снижали на 15; 26,9; 30,3 % и на 36,8; 42,3; 36,4 % число хромосомных повреждений соответственно на 8–; 12–; 16–недельный срок воздействия. Восстановилась активность ключевых ферментов АОЗ до значений, соответствующих здоровому организму, уменьшилась степень интоксикации и дисбаланса ПОЛ-АОЗ на все сроки наблюдения.

Выводы. Каскорутол и чаговит ослабляют генотоксические и оксидантные действия ДЭНА, способствуют нормализации физиологических процессов защиты организма от мутагенных и канцерогенных факторов, что позволяет использовать их в качестве доступных нетоксичных средств химиопрофилактики рака.

М.Я. Шапкина¹, Л.З. Болиева², Г.И. Кабацкая¹, А.В. Сергеев¹
РОЛЬ КАРОТИНСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ В ХИМИОПРОФИЛАКТИКЕ РАКА

¹ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

²СОГМА, Владикавказ

В рамках Государственной программы «Ликвидация последствий аварии на ЧЭС» разработана серия оригинальных нетоксичных отечественных препаратов на основе β-каротина (драже, бета-каротин (драже, капсулы, микрогранулы), бетаск (драже), каскатол (драже), каскорутол (драже), бета-кламин (капсулы).

В эксперименте доказана их антиканцерогенная и антимуtagenная активность на различных моделях химически-индуцированного и врожденного канцерогенеза и мутагенеза. Доклинические исследования подтвердили их безопасность и наличие у препаратов иммуномодулирующих, антиоксидантных, антиоксидеских свойств.

Препараты зарегистрированы в МЗ РФ и разрешены для производства и применения. Проведена их апробация в группах повышенного онкологического риска и в клинических условиях в качестве средств «сопровождения» при лечении предопухолевых, онкологических и сопутствующих заболеваниях.

В группе риска практически здоровых лиц Северного региона (177 человек) с иммунным дисбалансом и гиповитаминозом бета-каротин, каскатол, каскорутол оказывали иммунокорректирующее действие.

При курсовом применении бета-каротина нормализовалось сниженное содержание В-лимфоцитов, на 19 % увеличивался уровень Т-лимфоцитов. В 1,5–2 раза возрастало содержание В- и Т-лимфоцитов, повышалась фагоцитарная активность клеток и сократилось в 1,5–2 раза количество циркулирующих иммунных комплексов, снизилось содержание МДА.

Применение бета-каротина в группах часто болеющих детей (104 человека) способствовало снижению заболеваемости и нормализации иммунитета. В группах курильщиков (450 человек, «Центр профилактической медицины») каскатол улучшал состояние здоровья 60 % участников (повышался до нормы уровень β-каротина и витамина Е в плазме крови). 15 % «злостных» курильщиков прекратили курение, а 23 % – сократили дневную норму (в плацебо группе 6 % и 11 % соответственно).

У больных мастопатией (группа риска рака молочной железы) применение каскатола в комплексной терапии (265 человек, Онкодиспансер, г. Владикавказ) сопровождалось нормализацией иммунного и гормонального статуса, уменьшением через месяц субъективных проявлений мастопатии у 90 % женщин.

Положительные результаты получены и при включении каскатола в сочетанную схему терапии больных мастопатией (457 человек, г. Москва). Каскатол и каскорутол в комплексном лечении группы мужчин (346 человек, г. Москва) с аденомой простаты улучшали состояние здоровья у 68,6 %; стабилизировали – у 23 %.

Выводы. Каротинсодержащие препараты обладают иммунокорректирующим действием при различных иммунодефицитных нарушениях.

В отличие от традиционных иммуностимуляторов они нетоксичны и не влияют на нормальные физиологические показатели.

КЛИНИЧЕСКАЯ ОНКОЛОГИЯ

Е.В. Артамонова, Л.В. Манзюк

МЕСТО ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ В ТЕРАПИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Одним из важных факторов появления и дальнейшей прогрессии опухоли является ускользание опухолевых клеток от надзора иммунной системы. Задачами иммунотерапии в онкологии являются:

1. «Базисная» иммунотерапия опухолей с целью получения непосредственного противоопухолевого эффекта.
2. Снижение побочных эффектов традиционной противоопухолевой терапии: лечение миелосупрессии, иммуносупрессии, коррекция общеток-

сического действия, антиоксидантный эффект.

3. Профилактика рецидивов опухоли.
4. Профилактика и лечение сопутствующих инфекционных осложнений.

По своей направленности различают иммуномодулирующие, иммунодепрессивные и иммуностимулирующие иммунотропные лекарственные средства. Наиболее оптимальным в онкологической практике является применение иммуномодуляторов, которые в терапевтических дозах восстанавливают функции иммунной системы. Целесообразно назначать ИМ при вторичных иммунодефицитах, проявляющихся в виде хронических, вялотекущих, рецидивирующих инфекционно-воспалительных процессов любой локализации.

Лечение ИМ проводится под контролем оценки параметров иммунной системы. РМЖ – самое распространенное злокачественное новообразование у женщин в экономически развитых странах, включая и Россию. Несмотря на то, что РМЖ характеризуется экспрессией целого ряда опухолеассоциированных антигенов в сочетании с различными нарушениями иммунного статуса, иммуномодуляторы в настоящее время не входят в стандарты лечения данного заболевания, так как не решают основных задач по получению непосредственного противоопухолевого эффекта или профилактике рецидивов опухоли. Но препараты данного класса (полиоксидоний, галавит, липопид) могут оказаться чрезвычайно полезными для снижения побочных эффектов традиционной противоопухолевой терапии и для профилактики и лечения сопутствующих инфекционных осложнений.

М.Б. Бычков, Е.М. Трещалина, Д.В. Филоненко
ОПУХОЛЕВЫЕ ПЛЕВРИТЫ:
КЛИНИКА, ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ
ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Опухолевый плеврит обычно является следствием диссеминации злокачественной опухоли по плевре и всегда ассоциируется с прогрессированием заболевания.

Чаще ОП встречается при РЛ, РМЖ, РЯ, лимфомах и лейкозах. В механизме образования ОП основную роль играют увеличение проницаемости кровеносных сосудов плевры, обструкция лимфоузлов, лимфатических сосудов. Основная клиническая характеристика ОП – наличие экссудата. Лечение ОП начинается с эвакуации экссудата; в случае чувствительных опухолей, с последующим проведением системной ХТ. При неэффективности системной ХТ, либо при первично-резистентных опухолях (НМРЛ, РЖ и т.д.) показано внутриплевральное введение ЛВ, что приводит к уменьшению одышки, сердечно-легочной недостаточности, улучшению общего состояния больного и, тем самым, к увеличению продолжительности жизни. Современные подходы к внутриплевральной терапии ОП включают использование цитостатических агентов или плевросклерозирующих средств. Для внутриплевральной цитотоксической ХТ используют блеомицин, цисплатин, митоксантрон, этопозид, доксорубин и др. Для создания плевродеза применяются препараты местно-раздражающего действия – тальк, тетрациклин, доксициклин, акрихин, делагил. Эффективность внутриплеврального введения цитостатиков варьирует от 60 до 80%; плевросклерозирующих агентов – от 80 до 90%. Один из новых подходов к внутривнутриплевральной терапии ОП – применение бинарной каталитической системы «Терафтал+аскорбиновая кислота». Проведенные экспериментальные исследования и предварительные клинические исследования I-II фазы показали наличие эффективного плевродеза после внутривнутриплеврального введения каталитической системы при отсутствии системной токсичности. Эффективная паллиативная терапия ОП – важный аспект лечения онкологических больных для улучшения качества их жизни.

¹О.А. Бочарова, ¹М.И. Давыдов, ¹А.Ю. Барышников, ¹А.А. Клименков, ²В.Б. Матвеев, ²М.М. Пожарицкая, ³Г.Н. Крыжановский, ⁴В.А. Быков, ⁵Н.П. Бочков, ⁶В.А. Княжев, А.А. Воробьев

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ОНКОЛОГИЯ:
ВОЗМОЖНОСТИ
ФИТОАДАПТОГЕНОВ-ГЕРОПРОТЕКТОРОВ

¹ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

²МГМСУ, Москва

³НИИ ОПиП РАМН, Москва

⁴ВИЛАР, Москва

⁵МГНЦ РАМН, Москва

⁶ММА им. И.М. Сеченова

Использование геропротекторов в профилактической онкологии актуально, поскольку показана прямая зави-

симость частоты возникновения опухолей от скорости старения популяции. Перспективно применение фитоадаптогенов-геропротекторов. Фитоадаптогены являются иммуномодуляторами, в том числе индуцируя выработку интерферона. Обладают антистрессорной активностью, восстанавливая механизмы иммунологической защиты. Повышают уровень естественных антидепрессантов – эндорфинов, дофамина. Являются антиоксидантами. Связываясь с белком множественной лекарственной устойчивости, усиливают эффективность химиотерапии у онкологических больных. Ингибируют теломеразную активность и индуцируют апоптоз опухолевых клеток. Обладают антиангиогенным действием на опухоль. Противоопухолевые эффекты адаптогенов связывают также с их адгезиогенной активностью. Являясь поэтому индукторами дифференцировки, адаптогены снижают темпы пролиферации опухолевых клеток. Вместе с тем усиление на опухолевых клетках экспрессии адгезивных лигандов для эффекторов иммунитета вызывает лизис последними клеток мишеней, ослабляя "ускользание" опухоли от иммунологического надзора. В связи с этим исследован подход к оценке фитокомплекса, в том числе адаптогенов. Состав его компонентов отобран с учетом их антипролиферативной активности в отношении опухолевых клеток *in vitro*. Разработан способ биологической стандартизации. Выявлены его иммуномодулирующая, в том числе интерферогенная, антиметастатическая, радиопротекторная, нейропротекторная, гормономодулирующая, антимуtagenная, адгезиогенная активность. Фитоадаптоген эффективен при доброкачественной гиперплазии предстательной железы (уменьшение размеров гиперплазии, повышение уровня тестостерона, нормализация мочеиспускания); предраковом заболевании (уменьшение очагов оральной лейкоплакии); распространенном раке желудка (увеличение продолжительности жизни больных в 2,5 раза, снижение опухолевого маркера СА 19-9); возрастной нейродегенеративной патологии (улучшение двигательной активности пациентов с болезнью Паркинсона). Проводится физико-химическое изучение фитокомплекса. Создание подобного рода препаратов перспективно для нетоксической профилактики, лечения новообразований и увеличения продолжительности жизни.

А.В. Ваккер, Т.Л. Юркинович., П.М. Бычковский, С.А. Беляев, Д.А. Адамчик

ЛОКАЛЬНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ЦИСПЛАЦЕЛА ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ГОЛОВЫ И ШЕИ

ГУ РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, Минск, Беларусь
БГУ НИИ ФХП, Минск, Беларусь

Введение. Близкое расположение жизненно, морально и социально значимых органов на голове и шее значительно затрудняет радикальное удаление распространенных опухолей. С целью улучшения радикализма вмешательства разработана методика интраоперационной локальной химиотерапии синтезированным в Республике Беларусь препаратом «цисплацел», представляющим собой биорассасывающиеся салфетки окисленной целлюлозы с иммобилизованной цис-диамминдихлорплатиной (цисплатин). Применялись салфетки размерами 1,5×1,5 и 3,0×5,0 см и плотностью посадки цисплатина 1 мг/см².

Материалы и методы. Лечение проведено 65 больным с различными новообразованиями головы и шеи. В случае установления во время операции (клинически или морфологически) недостаточной радикальности вмешательства на зону наиболее высокого риска возникновения рецидива (мягкие ткани шеи, стенки костных полостей, нервные стволы, твердая мозговая оболочка, вещество мозга, клетчатка орбиты, конъюнктивы

глаза и др.) укладывался цисплацел и рана ушивалась полностью. В ране салфетки быстро приклеивались к тканям, набухали, превращались в желеподобную массу и полностью рассасывались через несколько дней.

Результаты исследования. Больные хорошо переносили местное применение препарата цисплацел. Препарат не вызывал раздражения и некроза различных тканей, общих реакций организма и не ухудшал процесс заживления ран. Из 65 больных, которым после недостаточно радикального удаления первичных и рецидивных опухолей был местно применен препарат цисплацел, рецидивы опухоли отсутствовали у 40 пациентов (61,5%). Рецидивы возникли у 25 больных (38,5%), однако срок ремиссий у пациентов с рецидивами опухолей после имплантации цисплацела удлинился на 1–3 месяца.

Выводы. Проведенное исследование свидетельствует, что местное применение препарата «Цисплацел» в дозе 40–75 мг безболезненно, не вызывает никаких общих реакций организма и местное раздражение кожи над салфетками, не ухудшает заживление ран и уменьшает число рецидивов.

А.М. Гарин

ПРОГРЕСС В ТЕРАПИИ РАКА ЖЕЛУДКА И РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ

ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

По 1980-е гг. включительно основные достижения химиотерапии связывались с контролем быстро растущих опухолей с высоким пролиферативным пулом – лейкозы, лимфомы, МЛРЛ, опухоли у детей, герминогенные и трофобластические новообразования.

Эти опухоли, составляющие всего 12% спектра, отвечали на химиотерапию ремиссиями и редко излечением. Внутри этой группы, по-прежнему, много контрастов. Можно излечить 80–90% больных герминогенными опухолями и только в 5% больных МЛРЛ.

Две формы опухолей (РЖ и РТК), о которых пойдет речь в настоящем докладе, несут груз ответственности за ежегодную смерть на земле почти 1,5 миллиона человек из 2,2 миллиона заболевших (2007 г.).

В начале 1960 гг. было известно о слабой чувствительности этих опухолей к фторурацилу, существенно продлевать жизнь диссеминированных больных не удавалось.

В настоящее время, благодаря внедрению таких препаратов как иринотекан, оксалиплатин, капецитабин, бевацизумаб и цетуксимаб, увеличилась медиана выживаемости пациентов с диссеминированным раком толстой кишки в 3 раза, с 6,5 до 24 мес., а у пациентов с метастатическим раком желудка впервые удалось довести её до 12 мес. после двадцатилетнего плато в 8–9 мес.

Невозможно представить Российские данные по общей популяционной выживаемости (их нет), но для мышления и оптимизма сообщая данные США за 2007 г.: 5 лет выживают 66% взрослых больных со злокачественными опухолями и 79% больных детей с опухолями.

И.Г.Гатауллин, С.В. Петров, А.В. Игуменов, А.А. Валиев

ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ АЛГОРИТМ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ КОЛОРЕКТАЛЬНЫХ ВОРСИНЧАТЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

РКОД, Казань

Ворсинчатые опухоли отличаются особенно высокой склонностью к перерождению и рецидивированию. Нерешены вопросы достоверного выявления злокачественной трансформации опухоли и единого подхода к ее лечению.

Цель исследования. Улучшение результатов диагностики и хирургического лечения больных с колоректальными ворсинчатыми новообразованиями. Материалы и методы исследования. Работа основана на анализе

результатов клинического обследования и лечения 91 пациента с крупными ворсинчатыми опухолями толстой кишки. Диагностический алгоритм включал в себя фиброколоноскопию с биопсией, трансабдоминальное и трансректальное УЗИ, КТ.

Биопсийный и операционный материалы отправляли на морфологическое исследование, включавшее стандартное гистологическое исследование и иммуногистохимический тест на тканевые биомаркеры. Иммуногистохимические исследования проведены с помощью набора моноклональных антител к маркеру Ki-67, мутантному белку p53, а также к РЭА.

Научная новизна работы. Впервые предложен и апробирован алгоритм обследования больных с колоректальными ворсинчатыми новообразованиями, включающий в себя комплекс лучевых и иммуноморфологических методов исследования.

Результаты исследования. На основании клинических наблюдений установлены дифференциально-диагностические лучевые критерии злокачественной трансформации ворсинчатых опухолей толстой кишки. Показано, что уровень экспрессии тканевых маркеров Ki-67, РЭА, p53, в дополнение к ультразвуковым, эндоскопическим, морфологическим критериям, определяет прогноз и показания к выбору адекватного метода лечения. Проведение комплексного предоперационного обследования, включающего эндоректальную эхографию, ультразвуковую колографию, КТ и иммуногистохимические методы исследования позволило снизить число местных рецидивов опухоли с 40,7 до 8,3 %.

Выводы. Предложенный алгоритм обследования пациентов способствовал более точной оценки распространенности процесса, как по протяженности, так и по глубине инвазии в стенку кишки, позволил заподозрить злокачественную трансформацию ворсинчатой опухоли, что способствовало выполнению радикальных операций, соответствующих объему и характеру поражения.

Е.В.Горанская, М.А. Каплан, М.В.Киселева,

В.Н. Капинус, М.В. Таибова, С.Д. Фомин

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЙ ЛИЗИС В КОМБИНИРОВАННОМ ЛЕЧЕНИИ РМЖ

ГУ МРНЦ РАМН, Обнинск

В 2006 г. в России заболело РМЖ 50 292 женщин, а 22 830 умерло. В лечении РМЖ традиционно используются хирургические, лучевые методы лечения, ПХТ, которые требуют длительного стационарного лечения, а также применения дорогостоящего оборудования и препаратов. В последнее время предпочтение отдается эффективным малоинвазивным методам лечения, одним из которых является ЭХЛ.

Задачами настоящего исследования является разработка и возможности применения метода ЭХЛ в комбинированном лечении РМЖ.

Материалы и методы. Исследование проведено 32 пациенткам с различными стадиями заболевания: 2 пациентки – 1 стадия, 18 пациенток – 2 стадия, 8 – 3 стадия, 3 пациентки после комплексного лечения с прогрессированием процесса и отдаленными метастазами. В 16 случаях диагностирован инфильтрирующий протоковый рак, в 4 – дольковый, в 6 – инфильтрирующий дольковый, в одном – сочетание инфильтрирующего долькового и протокового, у одной пациентки медуллярный рак. Лечение проводилось аппаратом ECU-300 Soring, с помощью платиновых электродов (4-10), вводимых как в сам опухолевый узел, так и перитуморально.

Использовались параметры: I – 50–80мА, время – 25–40 мин, заряд – 2100–3200Кл. Проводилось комплексное лечение – ЭХЛ, хирургическое, лучевое, ПХТ, гормонотерапия. Оценка эффективности осуществлялась под контролем УЗИ, маммографии, гистологического исследования.

Результаты исследования. При оценке по данным УЗИ и маммографии в 13 случаях отмечалось уменьшение опухолевого узла от 10 до 5 мм, в остальных случаях не было четкой визуализации опухоли. Гистологически наблюдался лечебный патоморфоз 1–3 степени, процент некроза опухолевого узла у большинства пациенток составил 60–80%, число полных и частичных ответов составило 66%.

Выводы. Метод ЭХЛ может применяться при различных стадиях процесса. Применим при первичных опухолях и при прогрессировании процесса. ЭХЛ может применяться неоднократно, при лечении опухолевых узлов различного размера. При использовании электрохимического лизиса во всех случаях был получен некроз опухолевого узла различной степени выраженности, что говорит об эффективности ЭХЛ.

В.А. Горбунова

ПРИМЕНЕНИЕ АРАНОЗЫ ПРИ НЕЙРОЭНДОКРИННЫХ ОПУХОЛЯХ

ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Среди многообразия злокачественных опухолей выделяется гетерогенная группа новообразований разных локализаций, способных синтезировать биологически активные вещества, которые могут проявлять себя своеобразными клиническими синдромами и симптомами. Эти опухоли развиваются из энтерохромаффинных клеток APUD-системы. Их выделяют в группу НЭО. К группе НЭО относятся также и МРЛ.

В лечении НЭО за рубежом применяют стрептозотин-2-дезоксид-2 (3-метил-3 нитрозомочевина)-глюкозамин, который в Россию не поставляется. При лечении МРЛ ранее также широко использовались другие нитропроизводные (НММ, CCNU, ACNU). В связи с этим в отделении ХТ НИИ КО у больных с НЭО и МРЛ проводится изучение комбинаций с отечественным производным нитрозомочевина – аранозой (3-6-L-арабинопиранозил-1)-1-метил-нитрозомочевина, которая, также как и стрептозотин, является сахаросодержащим производным. У 25 больных диссеминированными нейроэндокринными опухолями высокой и умеренной степени дифференцировки с различной локализацией первичного очага изучалась эффективность аранозы в различных комбинациях с другими противоопухолевыми препаратами: доксорубином (8), кселодой (11), 5-фторурацилом/лейковорином (4), монотерапия (2). 16 пациентов одновременно с ХТ получали α -интерферон, 10 – аналоги соматостатина в связи с карциноидным синдромом (клиническим или биохимическим). К настоящему времени оценены результаты у 22 больных. У 10 больных имелись клинические проявления синдрома, у 21 – биохимический «скрытый синдром» (повышение одного из показателей – хромогранин А, 5-ОИУК, серотонин, гистамин, гастрин, кальцитонин). Всего больные получили от 2 до 38 курсов лечения с аранозой. У 2 больных в процессе лечения заменялся второй компонент режима: доксорубин на темодал, кселода на цисплатин. У 1 больного из 22 оцененных (4,6%) отмечен полный эффект (араноза + 5-фторурацил/лейковорин) в сочетании с иммунными препаратами – α -интерферон, молексан; частичный эффект – у 3 (13,6%); стабилизация – у 11 (50%), у 7 из этих пациентов минимальный эффект в рамках стабилизации. Всего КРО отмечен у 15 больных (68,2%), прогрессирование – у 31,8%.

Токсичность режимов была незначительной, в основном – гематологической: лейкопения, нейтропения I–II ст. – 55%, тромбоцитопения I–II ст. – 18%, диарея I–II ст. – 36%. Общая и безрецидивная выживаемость к настоящему времени не оценены. По предварительным данным араноза представляется эффективным препаратом для лечения нейроэндокринных опухолей, с умеренной токсичностью.

Лечение комбинацией араноза+винкристин+доксорубин в качестве 2 линии при рецидивах диссеминированного МРЛ получили 43 больных. Полный эффект длительностью 20 мес достигнут у одного больного (2,3%), частичный эффект получен у 20,9%, стабилизация процесса у 48,8% пациентов. КРО – 37%. Медиана продолжительности жизни 6,94 мес при объективном эффекте 8,64 мес. Профиль токсичности благоприятный. Режим рекомендован для клинического использования у больных с рецидивами диссеминированного МРЛ.

^{1,2}Е.А. Гостюжова, ³Н.Б. Преснякова, ²С.А. Волкова, ³В.В. Новиков

ИЗУЧЕНИЕ МОНИТОРИНГОВОЙ РОЛИ СЫВОРОТОЧНОГО ПУЛА РАСТВОРИМЫХ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ АНТИГЕНОВ И МОЛЕКУЛ ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ ПРИ ХМЛ

¹ННГУ им. Н.И.Лобачевского, Н. Новгород

²ННОКБ им. Н.А. Семашко, Н. Новгород

³НИИ ЭМ им. И.Н. Блохиной, Н. Новгород

Задачи исследования. Наибольшие успехи в лечении ХМЛ достигнуты при использовании препарата гливек, ингибирующего BCR/ABL тирозинкиназу. Однако часть больных остаются резистентными к монотерапии гливек. Насущным вопросом становится поиск путей предсказания резистентности к гливек. Известно несколько десятков белков крови, составляющих пул растворимых форм мембранных антигенов клеток иммунной системы, принимающих участие в реализации иммунного ответа и способных выступать в качестве мониторинговых маркеров при многих онкологических заболеваниях. Информативность оценки особенностей протеома крови, связанных с количественным содержанием белков, формирующих пул растворимых молекул гистосовместимости и дифференцировочных антигенов, может быть существенно повышена с использованием в мониторинговых целях белковых биочипов. Задача исследования – определение при ХМЛ мониторинговой значимости спектра кандидатных для включения в биочип растворимых дифференцировочных антигенов и молекул гистосовместимости.

Материалы и методы. Материалом для исследования служили 81 образец сыворотки крови и костного мозга пациентов с ХМЛ. Иммуноферментное определение сывороточного уровня растворимых форм мембранных АГ проводили с использованием МКА серии ИКО.

Результаты исследования. Наиболее информативным оказалось изменение сывороточного содержания активационных антигенов – CD25 и олигомерного CD38, антигенов адгезии CD50 и CD54, CD95 антигена, опосредующего апоптоз, растворимых молекул HLA I класса и растворимого комплекса молекул HLA I класса и CD8 антигена.

Выводы. Существенные изменения в содержании тестированных белков крови обнаружены на фоне терапии гливек, причем они тесно зависели от эффекта терапии, который оценивался по уровню ЦГО. У пациентов с большим или частичным ЦГО значимых изменений в их содержании не выявлено, а при отсутствии и минимальном ЦГО были отмечены существенные отклонения в содержании данных антигенов.

*Т.М. Косинская, Л.Ю. Владимирова,
А.Э. Сторожакова, А.Л. Палий*

ПРЕПАРАТ РЕЗОРБА В ЛЕЧЕНИИ КОСТНЫХ МЕТАСТАЗОВ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

НИОИ, Ростов

Задача исследования. Оценка эффективности и переносимости препарата резорба в лечении костных метастазов у больных раком молочной железы.

Материал и методы. Лечение проводилось 24 пациенткам в возрасте 28–70 лет, страдающим диссеминированным РМЖ и имеющим множественные метастазы в кости, сопровождавшиеся выраженным болевым синдромом и значительным ограничением объема движений. Для купирования боли всем пациенткам применяли ненаркотические анальгетики. У 20 (83,3%) женщин костные метастазы сочетались с поражением внутренних органов и/или кожи. Всем проводилась цитостатическая терапия разными комбинациями ХТ, чаще с включением антрациклинов и таксанов. Препарат вводился в дозе 4 мг в/в капельно 1 раз в 4 нед.

Результаты. Уже после первого введения резорбы 20 пациенток (83,3%) отмечали значительное уменьшение болевого синдрома, отказ от анальгетиков и увеличение объема движений; у 4 (16,7%) больных эффекта отмечено не было.

Через 3–4 мес. от начала лечения больным выполнялось контрольное исследование костей (компьютерная томография или рентгенография). У 19 больных (79,2%) появились репаративные изменения в очагах остеолитических изменений, у 5 (20,8%) деструктивные изменения в костях сохранялись на прежнем уровне.

Переносимость резорбы была удовлетворительной у всех больных. У 8 (30%) отмечалась побочная реакция в виде гипертермии и усиление болей в первые сутки после введения препарата.

Выводы. Опыт показывает хорошую переносимость и эффективность отечественного препарата резорба у больных с множественными метастазами РМЖ в кости.

А.Ю. Марочко, Т.Ф. Боровская, Т.М. Маяцкая
**МЕТАСТАЗЫ МЕЛАНОМЫ КОЖИ
 БЕЗ ВЫЯВЛЕННОГО ПЕРВИЧНОГО ОЧАГА:
 ВОЗМОЖНОСТИ ИММУНОТЕРАПИИ**
 ХФР ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН
 ГУЗ ККЦО, Хабаровск

Задачи исследования. Изучить возможность применения и эффективность иммунотерапии в комбинации α -2 интерферонов и ронколейкина у больных с метастазами меланомы без выявленного первичного очага после проведения оперативного лечения.

Материалы и методы. 4 больным с ММБВПО ($T_xN_1M_{0-1}$) в послеоперационном периоде проведена противоопухолевая иммунотерапия, включающая: 6 курсов ронколейкина 2 млн Ед внутривенно в течение 5 дней с интервалом между курсами 4 нед. и α -2 интерфероны (роферон или интрон А) 3 млн Ед через 1 день, в течение 2 лет. Одной больной было проведено 2 курса ПХТ (CCNU 80 мг/м² в 1 день, ДТИК 300 мг/м² 2–4 дни, цисплатин 25 мг/м² 3; 4 дни с интервалом в 4 нед.) одновременно с иммунотерапией; ещё одна больная также одновременно с иммунотерапией получила 6 курсов химиотерапии ДТИК – 250 мг/м² 2–5 дни с интервалом 4 нед. Пациенты прослежены в течение 3–8 лет.

Результаты. ММБВПО считаются редким проявлением меланомы кожи. Прогноз при этой патологии исключительно неблагоприятный. Среди 29 больных, получавших только хирургическое лечение как самостоятельный вид, либо в комбинации с послеоперационной химиотерапией ДТИК в 1990–1999 гг., 3 года прожили только 3 пациентов, а 5 лет – 2. Следует отметить, что почти у 20% первичных больных ММБВПО диагностируются отдалённые метастазы, кроме того, имеющаяся серьёзная сопутствующая патология ограничивают возможность проведения полноценного лечения.

Из 4 больных, получавших иммунотерапию в 2000–2005 гг., все прожили 3 года, причём 2 из них живы более 7 лет без признаков рецидива. Наблюдавшиеся в процессе лечения лейкопения и тромбоцитопения носили умеренный характер (до 2 степени), явления гипер-

термии самостоятельно проходили в течение 3 мес. от начала лечения. У 3 больных отмечалось развитие псориаза, который также самостоятельно регрессировал после окончания введения интерферонов.

Вывод. Проведение послеоперационной иммунотерапии, в том числе в комбинации с химиотерапией, может способствовать улучшению результатов лечения больных с ММБВПО.

*Л.В. Платинский, В.В. Брюзгин, Е.Ф. Сатирова,
 Л.В. Манзюк*
**ФТОРАФУР В КОМБИНИРОВАННОЙ ХТ
 ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ**
 ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Фторафур – первый в мире пероральный фторпиридин – создан в 1967 г. в СССР. В организме ФТ под действием ферментов превращается в 5-ФУ. Фармакокинетические исследования показали, что ФТ при приеме внутрь быстро всасывается, максимальная концентрация в сыворотке достигается через 2–3 ч., среднее время удержания – около 13 ч, биодоступность равна практически 100%. Ранние исследования (1980–90 гг.) установили эффективность комбинации ФТ с лейковорином у больных запущенным колоректальным раком в пределах 25% (ПР+ЧР). ФТ под коммерческим названием Тегафур широко применяется в Японии, позднее на его основе создан ряд новых препаратов (UFT, S1). В последние годы вновь вырос интерес к ФТ, его стали включать в режимы ПХТ с цитостатиками последнего поколения.

В отделении амбулаторных методов диагностики и лечения НИИ КО РОНЦ изучается комбинация ФТ с паклитакселем и цисплатином: паклитаксел 125–140 мг/м² в 1 день + цисплатин 70 мг/м² в день 2 + ФТ 1200 мг/сут. с 1 по 10–14 дни 3–недельного цикла. По результатам лечения 23 больных распространенным РЖ достигнуто 52,2% частичных регрессий (12/23), стабилизация – у 17,4% (4/23). Отмечена чувствительность к лечению первичной опухоли, метастазов в печень, периферических лимфоузлов, яичников.

При распространенном РШМ объективный эффект, включая 1 полный ответ, достигнут у 8 больных из 15 (53,3%), стабилизация – у 3 пациенток (20%). Лечение эффективно в основном у больных без предшествующей ЛТ.

При плоскоклеточном раке головы и шеи частичная регрессия достигнута у 7 из 11 пациентов (63,3%), в том числе и при раке гортани, носоглотки, полости рта.

Комбинация ТРФт во 2–й линии химиотерапии оказалась эффективной у 2 из 6 больных раком яичников (РЯ). Еще 20 пациенток РЯ в 3–й линии получали комбинацию оксалиплатина 100 мг/м² в 1 день с ФТ. Объективный эффект составил 25% (5/20), еще у 4 больных (20%) наблюдалась стабилизация процесса.

В отделении новых противоопухолевых лекарств НИИ КО РОНЦ начато изучение эффективности комбинации ФТ с винорельбином у больных распространенным РМЖ в 1–й линии лечения. К настоящему моменту в программу включены 10 больных, эффект оценен у 6. Достигнута 1 полная и 2 частичные регрессии опухоли. Токсичность лекарственных комбинаций, включающих Фторафур, умеренная.

Т.о., представленные данные демонстрируют обнадеживающие результаты при использовании фторафура в лекарственных комбинациях и указывают на необходимость продолжения начатых исследований.

И.Л. Попова, Л.Ю. Владимирова
**БИОТЕРАПИЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ ТРЕНТАЛА
 В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ РМЖ**
 НИИО, Ростов

Задача исследования. Повысить эффективность ХТ метастазно-распространенного и первично-генерализованного РМЖ.

Материал и методы. Разработан метод аутоплазмохимиотерапии с предварительным введением трентала (АПХТ+Тр), который был применен в лечении 49 пациенток с местно-распространенным (43) и первично-генерализованным (6) раком молочной железы, в возрасте от 23 до 60 лет. Проводили 2-3 курса предоперационной полихимиотерапии по схеме CAMF на аутоплазме, перед каждым введением химиопрепаратов вводили внутривенно капельно трентал на 200 мл физиологического раствора. Курсовые дозы химиопрепаратов составили: метотрексата 30 мг/м², доксорубина 80 мг/м², 5-фторурацила 2000 мг/м², циклофосфана 800 мг/м².

Результаты. С сентября 2007 г. по сентябрь 2008 г. лечение проведено 49 больным. Эффект оценен у 47 женщин, двое больных были исключены из оценки в связи с аллергической реакцией на трентал. Объективный эффект в исследуемой группе отмечен в 94% случаев (44), полный регресс опухолей – в 14,8% (7) у 3 пациенток после 1 курса, стабилизация – у 3 (6,4%). Прогрессирование заболевания в основной группе имело место в 4,3% (2) случаев, выражалось в поражении второй молочной железы у одной пациентки, диссеминации в костях на фоне лечения. У трех больных первично-генерализованным раком молочной железы отмечался полный регресс метастазов в легкие, кости, печень уже после 3 курсов АПХТ+Тр.

Выводы. Проведение аутоплазмохимиотерапии с предварительным введением трентала повышает клиническую эффективность данного метода, предположительно в результате увеличения оксигенации крови, в том числе опухолей, и изменения реологических свойств крови пациенток.

А.В. Снеговой, Л.В. Манзюк, А.И. Салтанов
ВОЗМОЖНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ
СИНДРОМА АНОРЕКСИИ-КАХЕКСИИ
 ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н.БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Одним из важных симптомов наличия или развития опухоли является снижение массы тела. Синдром анорексии-кахексии подозревается у онкологических больных при потере массы тела более 5% за 6 мес., особенно если ассоциируется с потерей мышечной ткани. Отметим, что потеря массы тела у больных с опухолями гастроинтестинальными локализациями в результате развития синдрома анорексии-кахексии напрямую связана с медианой выживаемости.

Задача исследования. Оценка возможности лечения синдрома анорексии-кахексии у онкологических больных.

Материалы и методы. Проанализированы 23 истории болезни лиц с местно-распространенным и метастатическими опухолями (КРЛ, НМРЛ, РЖ, забрюшинные опухоли, опухоль надпочечника, рак поджелудочной железы), получавших амбулаторную ХТ. У больных отмечено снижение массы тела в среднем на 13-15 кг, анорексия 1-2 степени, астения, субфебрильная температура, депрессия, нутритивная недостаточность, тошнота, неприятный привкус во рту, анемия, гипопропротеинемия, болевой синдром (2-3 балла), тромбоцитоз. Дополнительно использовались шкалы PG-SGA, QLQ C-30, VAS и "ABC" (собственная разработка).

Схема лечения включала назначение: 1) обезболивания; 2) энтерального питания (Нутриен-форт и другие смеси); 3) прокинетики; 4) спазмолитиков; 5) про- и пребиотиков; 6) коррекцию анемии; 7) ингибиторов СОХ₂; 8) ингибиторов МАО. Больные разделены на две группы по длительности применения комплексной терапии: I (n=12) лечение в течение 7 дней перед каждым циклом ХТ, II (n=11) – дополнительное лечение на 7-8 день после окончания ХТ. Интервал между циклами ХТ – 14-21 день. Оценка эффекта производилась после 2 курсов химиотерапии.

Результат. Субъективное улучшение после комплексной терапии отмечено в обеих группах, однако во II 72% больных отмечали стабилизацию массы тела, повышение физической активности и улучшение аппетита, в группе I только в 18% случаев выявлены аналогичные результаты (критерий Стьюдента – 3,1; p <=0.05).

Вывод. Лечение синдрома анорексии-кахексии возможно, но должно быть комплексным и длительным.

А.Э. Сторожакова, Л.Ю. Владимирова, А.Л. Палий
ПРИМЕНЕНИЕ ТИМОДЕПРЕССИНА
В ЦЕЛЯХ ПРОФИЛАКТИКИ ЛЕЙКОПЕНИИ
ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ХТ БОЛЬНЫМ РМЖ
 НИОИ, Ростов-на-Дону.

Задача исследования. Проанализировать возможности применения препарата тимодепрессин для профилактики гранулоцитопении у больных, которым проводятся курсы химиотерапии.

Материал и методы. В исследование включено 16 больных раком молочной железы местнораспространенным и диссеминированным, которым применялись антрациклинсодержащие режимы ХТ, имевших в анамнезе после предшествующих курсов химиотерапии лейкопению I-III степени. Препарат применяли у всех пациенток в течение 5 дней по 1 мл 0,1%-ного р-ра, начиная за сутки до начала ХТ.

Результаты. У 75% больных после ХТ, проводившейся на фоне введения тимодепрессина, лейкопении не было, у 25% – преходящая лейкопения I степени.

Выводы. Применение тимодепрессина при проведении курсовой ХТ значительно сокращает число и степень гематологических осложнений, что позволяет рекомендовать его для клинического применения.

Е. Г. Толоконников
ОСОБЕННОСТИ МАРКЕТИНГА
ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ
 ТОО ФЗ, Караганда, Казахстан
 АО НПЦ Фитохимия, Караганда, Казахстан

Переход системы лекарственного обеспечения медицинских учреждений и населения на условия рыночной экономики потребовал применения соответствующих концепций и моделей управления, способных обеспечить эффективность предпринимательской деятельности. Решению этой задачи в немалой степени способствовало активное освоение маркетинговой концепции управления.

Особенности фармацевтического маркетинга определяются спецификой лекарственных средств, характером барьеров выхода на рынок (лицензирование, сертификация продукции, производства, специалистов и т.д.), составом потребителей (наличием промежуточных потребителей), формальными и неформальными институтами, взаимоотношениями в каналах товародвижения и др.

Маркетинг противоопухолевых препаратов и их продвижение на рынок в особой степени зависят от всех вышеперечисленных факторов.

В основе современной терапии злокачественных новообразований предусмотрено рациональное использование всех методов лечения. С этой точки зрения современная химиотерапия значительно расширяет возможности лечения онкологических больных, что связано с внедрением в практику ряда противоопухолевых препаратов с новым спектром действия. Препараты, выделенные из лекарственных растений, например, таксаны паклитаксел и доцетаксел, обусловили прорыв в химиотерапии распространенного рака молочной железы, яичников, мелкоклеточного рака легкого. В многочисленных клинических исследованиях продемонстрирована высокая противоопухолевая активность винорельбина (навельбина), созданного на основе алкалоида барвинка розового (*Vinca rosea L.*).

Оригинальный противоопухолевый препарат «Арглабин», разработанный в Научно-производственном центре «Фитохимия» Республики Казахстан, представляет собой сесквитерпеновый лактон, выделенный из полыни гладкой (*Artemisia glabella Kar. et Kir.*). Применение его в клинической практике в течение последних пяти лет доказало эффективность препарата при лечении РМЖ, первичного РП, РЛ.

Перспективность применения препаратов растительного происхождения в лекарственной терапии злокачественных новообразований подтверждается многочисленными медицинскими исследованиями, которые, в свою очередь, дают основание утверждать, что включение в стандартные программы лечения онкологических больных средств, способных изменять взаимоотношения между опухолью и организмом и позволяющих уменьшить или нейтрализовать побочные эффекты цитостатической терапии – необходимое условие успешного лечения. Во всех странах мира лечение онкологических заболеваний является прерогативой государства. В подавляющем большинстве стран противоопухолевая терапия в частных клиниках и частнопрактикующими врачами запрещена.

Вывод. Таким образом, изучение особенностей маркетинга противоопухолевых препаратов показало, что включение их в стандартные программы и схемы, а также утвержденные протоколы лечения является одним из основных и необходимых условий вывода лекарственного средства на фармацевтический рынок и доставки его до конечного потребителя, т.е. больного.

Т.Г. Щербатюк., Д.В. Давыденко, В.А. Лазарева, А.В. Масленникова

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И ВЯЗКОСТЬ КРОВИ В ОЦЕНКЕ ПРОГНОЗА ИСХОДОВ ЗАБОЛЕВАНИЯ У ПАЦИЕНТОВ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННЫМИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ ОРОФАРИНГЕАЛЬНОЙ ЗОНЫ

ГОУ ВПО НИЖГМА РОСЗДРАВА, НИЖНИЙ НОВГОРОД

Цель. Оценить прогностическое значение состояния процессов перекисного окисления липидов и вязкости плазмы крови у больных раком полости рта и глотки.

Материалы и методы. В исследование включено 30 пациентов с местно-распространенными опухолями полости рта и глотки в возрасте 54±15 лет, сопоставимых по стадии, локализации, морфологической структуре опухоли и другим факторам, оказывающим влияние на прогноз. Всем пациентам был запланирован курс ПХТ по схеме 5-фторурацил+цисплатин, затем 2 этапа химиолучевого лечения до СОД 68-70 Гр. Состояние ПОЛ оценивали по уровню малонового диальдегида методом спектрофотометрии, вязкость плазмы крови измеряли на ультразвуковом микровискозиметре.

Результаты. Установили, что исход заболевания у наблюдаемых пациентов определяется исходным значением содержания МДА.

Так, 9 пациентов с уровнем МДА 3,35±1,18, которым лечение было завершено в соответствии с планом, а через 1 мес. после его окончания отмечался регресс первичной опухоли и регионарных метастазов более 75%, составили группу «благоприятного прогноза». В группу «удовлетворительного прогноза» с уровнем МДА 5,87±0,48 вошли 8 пациентов, лечение которым было проведено в полном объеме, но в сроки до 12 мес. было выявлено локальное прогрессирование заболевания. Медиана выживаемости в обеих группах не достигнута. В группу «неблагоприятного прогноза» с уровнем МДА 10,92±3,09 включены 13 пациентов, у которых не была достигнута полная ремиссия, у 3 из них наблюдалось прогрессирование заболевания на фоне лечения. Медиана выживаемости в данной группе составила 6 месяцев.

При значении вязкости плазмы крови 1,8сПз и выше развивались тяжелые осложнения, а также наблюдалось прогрессирование заболевания на фоне лечения.

Выводы. Показатели перекисного окисления липидов и вязкости плазмы крови могут быть использованы для прогнозирования исходов заболевания у пациентов местно-распространенными злокачественными новообразованиями орофарингеальной зоны.

Л.А. Чурилова, Л.С. Скрябина, Т.С. Фролова, О.А. Кремлева, С.И. Маркосян, Е.Ю. Володина, В.Н. Кузнецова, О.А. Матяш, Н.Е. Бутина, М.Г. Солохина, А.А. Половинкин, С.Н. Евдокимов, А.Ф. Лазарев

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТАУТАКСА В ЛЕЧЕНИИ МЕТАСТАТИЧЕСКИХ ФОРМ РМЖ

ГУЗ АКОД, Барнаул

АФ ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, БАРНАУЛ

Основной задачей лечения больных МРМЖ является улучшение качества жизни и увеличение выживаемости.

В Алтайском краевом онкологическом диспансере с сентября 2007 г. по сентябрь 2008 г. пролечены 11 пациенток МРМЖ T₁₋₃N₁₋₂ M₁ комбинацией препаратов таутакс (доцетаксел) 75 мг/м² + веро-эпирубицин 60 мг/м² внутривенно в 1 день через 21 день. У 6 (54,5%) пациенток опухоль характеризовалась положительными тестами на Her2-неу, а у 8 (72,7%) на рецепторы эстрогена и прогестерона. Все пациентки имели висцеральные метастазы – 8 (72,6%) в печень и 3 (27,3%) в легкие. Пациентки ранее получили полихимиотерапию в нео- и/или адьювантном режиме, не содержащую антрациклиновые антибиотики. Среднее число предшествующих химиотерапевтических циклов 6. Перед лечением общее состояние пациенток по шкале ECOG ≤1-2.

Больные МРМЖ получили 4 (6) циклов химиотерапии (всего 64). Метастатические очаги исследовались до лечения и после 2; 4; 6 циклов химиотерапии посредством ультразвукового исследования и компьютерной томографии. Общий и биохимический анализы крови исследовали на 7 день каждого цикла.

В процессе лечения нами были отмечены негематологические осложнения – тошнота/рвота 2 ст. – 1 (1,5%) эпизод, стоматит – 2 (3,1%), алопеция – 11 (17,2%). Из гематологических осложнений наблюдали лейкопению 2 ст. – 7 (10,9%) эпизодов, 3 ст. – 2 (3,1%), нейтропению 3 ст. – 1 (4,6%), 2 ст. – 2 (3,1%), 3 ст. – 2 (3,1%). Нейтропения хорошо корректировалась колониестимулирующими факторами (граноцит, нейпоген, лейкостим). Тошнота и рвота купировались антагонистами 5HT₃-рецепторов.

Объективный лечебный эффект (полная+частичная регрессия опухоли) составил 8 (72,7%) наблюдений, стабилизация – 3 (27,3%). Трудовую деятельность в обычном режиме во время лечения и по настоящее время продолжают 4 (36,4%) пациентки. Все больные активно нами наблюдаются.

Таким образом, хорошие непосредственные результаты лечения больных МРМЖ комбинацией препаратов таутакс (доцетаксел)+веро-эпирубицин свидетельствуют о ее высокой эффективности и хорошей переносимости.

С.И. Яровая, К.Г. Пузаков, И.А. Зайцева, Ю.Н. Потанов **ПОСТОЯННАЯ ИНФУЗИЯ ФТОРУРАЦИЛА В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ РАКОМ ЖЕЛУДКА**

ОКОД, Воронеж

Генерализованный РЖ по сей день остается заболеванием, при котором лекарственное лечение является недостаточно эффективным. Малая чувствительность злокачественных новообразований желудка к ХТ обусловлена в том числе и низким пролиферативным пулом в опухолях. Поэтому определенным интерес вызывают методики лечения с круглосуточным введением цитостатиков.

Задачи исследования. Оценить эффективность и переносимость схемы цисплатин/фторурацил (PF) с постоянной круглосуточной инфузией фторурацила у больных генерализованным раком желудка.

Материал и методы. Пролечено 37 больных генерализованным раком желудка, 15 мужчин и 22 женщины. Средний возраст соответственно 52 и 48 лет. Гистологически у всех пациентов был мало-, недифференцированный рак желудка. У 25 пациентов общее состояние оценивали в 36 (ECOG), у 12 – 26. Пациенты получили химиотерапию по схеме PF: цисплатин 100 мг/м² 1 день; фторурацил 1000 мг/м²/сутки, постоянная инфузия дни 1–4. Интервал 3–4 нед. Лечение проводили на фоне сочетания ондансетрона и кортикостероидов, в некоторых случаях использовали адекватный.

Результаты. В среднем пациенты получили по 3 курса ХТ (от 1 до 6). В большей части случаев отмечены диспепсический синдром I–II степени, лейкопения I–II степени, не требующие значимого лечения.

Стабилизация процесса средней продолжительностью 4,2 мес. наблюдалась у 21 пациента (57%), у 4 из них (11%) длительностью 6–7 мес. При этом имело место уменьшение проявлений заболевания с улучшением общего состояния. У 4 пациентов (11%) была достигнута частичная регрессия средней длительностью 6,3 мес. Прогрессирование процесса констатировано у 12 пациентов. Полных ремиссий не было.

Выводы. Постоянная инфузия фторурацила в сочетании с цисплатином является достаточно хорошо переносимым лечением и её применение даже у ослабленных пациентов с генерализованным раком желудка вызывает определённый положительный эффект с контролем роста опухоли у каждого пятого пациента и улучшением качества жизни.

Д.А. Ковалевский², И.Н. Михайлова¹, Л.Ф. Морозова¹, О.С. Бурова¹, В.А. Голубева¹, Е.С. Воронина³, Е.А. Черемушкин¹, И.А. Утяшев, Г.С. Аллахвердян¹, Н.Н. Петенко, Т.Т. Кондратьева², С.Л. Киселев⁴, Л.В. Демидов¹, Р.Ш. Бибилашвили², А.Ю. Барышников¹

ЭКСПРЕССИЯ РАКОВО-ТЕСТИКУЛЯРНЫХ ГЕНОВ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ СТЕПЕНИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ КОЖИ

¹ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

²ФГУ РКНПК;

³ГУ Медико-генетический научный центр РАМН;

⁴Институт общей генетики им. Вавилова РАН

Введение. Меланома – злокачественная опухоль, развивающаяся из меланоцитов – пигментных клеток, продуцирующих меланины и преимущественно локализуется в коже; одна из наиболее злокачественных опухолей человека, часто рецидивирует и метастазирует. Настоящие системы определения степени дифференцировки опухоли, основанные на морфологических особенностях, не могут точно определить степень дифференцировки или прогнозировать риск развития метастазов для отдельного пациента.

Мы выдвигаем гипотезу, что характеристика экспрессии раково-тестикулярных генов при меланоме кожи улучшит классификацию этих опухолей и прогноз метастазирования. Для определения клинически значимой экспрессии раково-тестикулярных генов при меланоме мы использовали в исследовании метастатические клеточные линии меланомы, метастазы меланомы в лимфатические узлы и первичные опухоли для исследования методом обратной транскрипции совмещенной с полимеразной цепной реакцией (ОТ-ПЦР).

Материалы и методы. Образцы опухоли были получены у 27 пациентов, из 17 первичных опухолей после эксцизионной биопсии и 10 ТАБ метастазов в лимфатические узлы на поздней стадии.

Также были получены меланомные клеточные линии от пациентов при поздней стадии. Суммарную РНК из культур опухолевых клеток меланомы выделяли с применением кислого фенола, гуанидина изотиоционата и аммония тиоционата.

Далее суммарная РНК была транскрибирована (ОТ) и амплифицирована (ПЦР). Фотографии геле-электрофореза продуктов ПЦР были оцифрованы при помощи программы ImageQuant и результаты представлены в произвольных единицах.

Иерархическое двумерное кластерирование данных ОТ-ПЦР проводили при помощи программ Майкла Эйзенберга “Gene Cluster v3” и “Tree View”.

Для определения статистического значения корреляции использовали t-тест Стьюдента.

Результаты. Экспрессия 4 дифференцировочных антигенов меланомы и 15 раково-тестикулярных генов анализировалась во всех клеточных линиях, первичных опухолях и метастазах в лимфатические узлы. Морфологические характеристики степени дифференцировки также изучались во всех случаях.

Митотический индекс был определен в первичных опухолях и метастазах в лимфатические узлы.

Определение экспрессии генов и морфологии клеток меланомы выявило корреляцию между экспрессией раково-тестикулярных генов и степенью дифференцировки опухолевых клеток. Также выявлена корреляция между экспрессией раково-тестикулярных генов и митотическим индексом в первичных опухолях.

Заключение. Настоящее исследование выявило: отсутствие корреляции между экспрессией генов кодирующих компоненты меланосом (MLANA; TYR; WARS; SILV) и степенью дифференцировки клеток и наличие корреляции между уровнем экспрессии раково-тестикулярных генов (MAGEA 1-3; 6; 10; 12; GAGE1-8; BAGE, MAGEC1) и степенью дифференцировки клеток меланомы. Экспрессия этих генов, по-видимому, будет лучшей характеристикой постепенной потери дифференцировки клеток меланомы и возможно постепенному увеличению их злокачественности.

Это исследование позволит нам определить их потенциал для прогнозирования клинического течения меланомы.

РАЗНОЕ

А.М. Дейчман

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ НАНОКОМПОНЕНТЫ И РЕГУЛЯТОРЫ

ГУ РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Задачи исследования. Наноонкология – часть наноуки, активно развиваемой в различных областях

науки, технологий, промышленности. В биомедицинских науках нанодиапазон (1–100 нм) актуален для взаимодействующих низкомолекулярных и биомикрофрагментов субстанций природного/синтетического происхождения (включая новейшие противоопухолевые нанолечения).

Особенностью органических/неорганических наномолекулярных структур является их склонность к особому роду самоорганизации. Однако прояснение природы воспроизводства внутриклеточных белково-нуклеиновых наноструктур, организованно взаимодействующих со структурами этого и других (микро-, пико-, фемто-, ...) уровней, может существенно расширить возможности нанотехнологий.

Результаты и выводы. Ранее описывалась сборка таких структур в гипотетической «ретранслосоме» [1-3]. Возможные продукты сборки – нуклеиновые эквиваленты эпитопа (в 15–30 нуклеотидов), способные к внутри-/межклеточным перемещениям в составе подвижных нуклеиновых векторов или РНП-частицах (скорее, малых) и обеспечению физиологической и эволюционной компонент метаболитических преобразований эпигенома на основе изменений в регуляторной части генома.

Обратно-информационная связь между НЭ и геномом замкнута и иерархична в ряде циклов:

[(НЭ→повторы→интроны→экзоны)_n].

Аналогичные наноразмеры имеют редактирующие РНК участки и малые РНК.

Динамически изменяемые наборы малых РНК обнаруживают усиливающуюся тенденцию (эпи)/генетической регуляции эмбриогенеза, онтогенеза, старения, генетических патологий (включая онкологические). Малые РНК часто контролируют экспрессию генов, их сетей (сигнальных путей, факторов транскрипции; за счет РНКи, геномного сайленсинга) и активность хроматина (генома, эпигенома), т.е. процессы дифференцировки, пролиферации, апоптоза, др., а также степень экспрессии/амплификации онкогенных и антионкогенных факторов.

В свою очередь, (частично-)/комплементарно взаимодействуя с самими малыми РНК, их РНК/мРНК-мишенями, выполняя роль транскрипционной затравки (включая гены малых РНК), нано-НЭ могут как вступать в конкурентные отношения и регуляцию экспрессии самих малых РНК, так и модулировать многие из в.н. (включая онкогенез и взаимодействие с противоопухолевыми нанолекарствами) процессов.

[1] Deichman A.M., Choi W.C., Baryshnikov A. Yu. RNA editing. Hypothetical mechanisms. M.: Practical Medicine (www.medprint.ru), pages 1-265 (in English) and pages 1-302 (in Russian), 2005.

[2] Дейчман А.М. Возвращаясь к вопросу о РНК/белковой симметрии. Электронный Журнал «Исследовано в России», pages 1-41 in English; pages 1-50 in Russian, 2007, <http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles/2007/149>.

[3] Дейчман А.М. Гипотетические механизмы формирования гипервариабельных и консервативных олигонуклеотидных участков генома. Возможные перспективы // РБЖ, 2007, №3, с. 51-60.

А.В. Киселев, Г.А. Гордина, С.А. Зорина, О.И. Тарасова
ТВОРЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ
НАУЧНЫХ СОТРУДНИКОВ

ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

В связи с развитием инновационных технологий в науке возросли требования к уровню научной продукции. Особое внимание обращено на охраноспособные темы планируемых научных исследований и диссертационных работ, результатом которых могут быть изобретения, подлежащие патентованию.

В 2008 г. отмечена тенденция к активизации творческой активности научных сотрудников РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН. Так, из 58 выполнявшихся тем НИР, включенных в тематический план РОНЦ, охраноспособные темы составили 53%, в 3 раза увеличилось число заявок на изобретения по сравнению с 2007 г., поддерживаются в силе 40 патентов и 8 лицензионных договоров.

Однако число охраноспособных диссертационных тем не превышает 20%.

Российский онкологический научный центр за разработку «Средство, обладающее противоопухолевым действием» награжден Дипломом Роспатента в номинации «100 лучших изобретений России».

Научные сотрудники РОНЦ принимают активное участие в международном сотрудничестве; получен патент в Канаде на «Средство для подавления опухолевого роста».

Руководство РОНЦ оказывает всестороннюю поддержку изобретателям. Авторы изобретений, получившие патенты, премируются в размере месячного оклада.

К.С. Титов, М.В. Киселевский, Л.В. Демидов, И.Ж. Шубина, И.Н. Михайлова, И.Е. Синельников, Л.М. Родионова

ВОЗМОЖНОСТИ ВНУТРИПЛЕВРАЛЬНОЙ
ИММУНОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ С
МЕТАСТАТИЧЕСКИМИ ПЛЕВРИТАМИ

ГУ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН, МОСКВА

Введение. Внутривлепральная иммунотерапия – перспективный метод лечения опухолевых плевритов, который может рассматриваться как один из этапов комбинированного и (или) комплексного лечения больных с диссеминированным раком.

Цель исследования. Оценить клиническую эффективность и переносимость внутривлепральной моноиммунотерапии рекомбинантным интерлейкином-2 (Ронколейкин, пр-во ООО «Биотех», СПб), который обладает способностью индуцировать дифференцировку лимфоцитов, которые часто содержатся в плевральном экссудате, усиливает их хелперную и киллерную активность.

Материалы и методы. В исследование было включено 25 больных с метастатическим экссудативным плевритом: РЛ – 3, РМЖ – 17, рак почки – 2, рак яичников – 3; из них 4 мужчин и 21 женщин в возрасте 42–73 лет. До начала внутривлепральной терапии все пациенты получали соответствующее комбинированное или комплексное лечение, как правило, хирургическое в комбинации с химио-, гормоно-, иммуно- или радиотерапией.

Для проведения иммунотерапии плевральная полость дренировалась под местной анестезией на срок до 14 дней, через день максимально осушалась перед введением препарата. На цитологическое исследование экссудат отправляли до проведения иммунотерапии, в середине курса и по его окончании.

Ронколейкин вводили в пораженную плевральную полость в дозе 1 млн. МЕ (1 мг) на 20 мл физиологического раствора в дни 1–5 и 8–12 (суммарно – 10 млн. МЕ, т.е. 10 мг). Контрольное рентгенологическое исследование (рентгенография в 2 проекциях и (или) СКТ органов грудной клетки) проводили после курса, через месяц и в динамике через 6–12 мес.

Результаты. До начала лечения у всех больных при рентгенографии и (или) СКТ органов грудной клетки регистрировали различный уровень накопления плеврального выпота. Как правило, эффект лечения определялся после 4–5 нед. лечения при выполнении рентгенографии и (или) СКТ органов грудной клетки и сохранялся от 6 до 12 мес.

За этот срок у 11 пациентов достигнуто полное прекращение экссудации; существенное уменьшение с образованием мелких внутривлепральных «карманов» у 7 пациентов; стабилизация (торможение накопления экссудата) у 3 больных; у 4 пациентов эффекта от данного лечения не наблюдалось. Повторное накопление плеврита возникло у 5 больных в сроки от 2 до 18 месяцев после окончания лечения.

Общая эффективность внутриплевральной ИЛ-2-иммунотерапии, через 4–5 недель после ее окончания, составила 84 %. К настоящему времени (данные на 18 февраля 2009 г.) умерло от прогрессирования опухолевого процесса 7 больных, живы – 18. Медиана общей выживаемости не достигнута.

Цитологическое исследование экссудата проводилось во всех случаях опухолевых плевритов до начала внутриплевральной иммунотерапии, а также в середине и в конце лечения. Установлено, что в плевральном выпоте до лечения выявлялось, как правило, значительное количество опухолевых клеток.

У большинства пациентов (N=18) к середине лечения опухолевые клетки отсутствовали, а у остальных (N=7) они находились в стадии дегенерации, окруженные активированными лимфоцитами, что приводило к дальнейшему разрушению (лизису клеток).

В конце курса у подавляющего числа больных (N=21) в экссудате опухолевые клетки не определялись и обнаружены только в 4 случаях у пациентов, не ответивших на данное лечение.

Заключение. Внутриплевральная ИЛ-2-иммунотерапия, проведенная 25 больным с метастатическими экссудативными плевритами, показала высокую общую эффективность (84%), в виде полного прекращения (44%), существенного уменьшения (28%) или торможения экссудации (12%), что подтверждалось лучевыми методами диагностики и цитологическим исследованием плеврального экссудата. Учитывая высокую эффективность, хорошую переносимость и простоту применения, внутриплевральная ИЛ-2-иммунотерапия после дальнейшего изучения может быть рекомендована для широкого использования в онкологической практике при лечении метастатических плевритов.

СПИСОК ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АВАА	3-амино-1,2-дикарба-клозо-додекаборан-1-ил)уксусная кислота
АГ	антиген(ы)
АГ	аминогуанидин
АГХТ	аутогеомохиотерапия
АМ	аскорбинат магнетита
АМЖ	аденокарцинома молочной железы
АПЖ	аденома предстательной железы
мАрг	N ⁸ -метил- L-аргинин
БДС	большой дуоденальный сосочек
БДПОВ	база данных по противоопухолевым веществам
БКРК	базальноклеточный рак кожи
БКС	бинарные каталитические системы
БНЗТ	бор-нейтронозахватная терапия
БП	бенз(а)пирен
ВАРП	вирусассоциированный рецидивирующий папилломатоз гортани
ВМ	васкулогенная мимикрия
ВСГ	водная суспензия (измельченных) грибов
ВЭБ	вирус Эпштейна-Барр
ВЭЖХ	высокоэффективная жидкостная хроматография
ГП	гипертермия
Г-КСФ	гранулоцитарный колониестимулирующий фактор
иммГ-КСФ	иммун гранулоцитарный колониестимулирующий фактор
стГ-КСФ	стандартный препарат рекомбинантного человеческого Г-КСФ
ГХ	гистохром
ГПЭ	гиперпластический процесс эндометрия
ДГПЖ	доброкачественная гиперплазия предстательной железы
ДИ	доклиническое изучение
ДФТ	диффузионная флюоресцентная томография
ДЭНА	диэтилнитрозамин
ДК	диеновые конъюгаты
ДФТ	диффузионная флюоресцентная томография
Докс	доксорубин
ИМ	иммуномодуляторы
ИР	индекс роста опухоли
ИТЛС	иммунотропные лекарственные средства
ИЭ	индекс эффективности
Кр	L-карнозин
К	коэффициент активности
КИ	критерий излеченности
КРО	контроль роста опухоли
КСИ	кислото-стабильные ингибиторы
Л	лазер
ЛПМ	лазер на парах меди
ЛК	лазер на красителе
ЛФС	локальная флюоресцентная спектроскопия
ЛСИ	лекарственно-световой интервал
ЛТ	лучевая терапия
ЛФ	лекарственная форма
ЛХ	лимфома Ходжкина
МГ	манганиты
МБР	модификатор биологических реакций
МДА	малоновый диальдегид
ММБВПО	метастазами меланомы без выявленного первичного очага
МКА	моноклональные антитела
МЛУ \MRD	множественная лекарственная устойчивость
МПН	магнитоуправляемые противоопухолевые нанопрепараты
МРЛ	мелкоклеточный рак легкого
МРТ	магнитно-резонансная томография
МФМ	многофотонная флюоресцентная микроскопия

(окончание на стр. 92)

УДК 615.277.3.076:618.32.68

*Г.Н. Апрышко***ТЕХНОЛОГИЯ РЕГИСТРАЦИИ НОВЫХ ВЕЩЕСТВ В БАНКЕ ДАННЫХ ПО ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМ ВЕЩЕСТВАМ НИИ ЭДИТО ОНКОЛОГИЧЕСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА ИМ. Н.Н. БЛОХИНА РАМН С ПОМОЩЬЮ «ЭЛЕКТРОННОГО ПАСПОРТА»**

ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, 115478 Москва, Каширское ш., 24

Резюме

Описана современная эффективная информационная технология регистрации новых субстанций, поступающих на биологическое изучение, в Банке данных по противоопухолевым веществам НИИ ЭДИТО РОНЦ имени Н.Н. Блохина РАМН. Технология позволяет максимально стандартизовать представление данных в компьютерной базе данных, сократить время и ошибки при их вводе.

Ключевые слова: базы данных, противоопухолевые вещества, экспериментальная химиотерапия опухолей.

*Apryshko G.N.***THE TECHNOLOGY OF THE NEW SUBSTANCE REGISTRATION IN THE N.N. BLOKHIN RUSSIAN CANCER RESEARCH CENTER RAMS DATABASE ON ANTITUMOR SUBSTANCES WITH THE USE OF "ELECTRONIC PASPORT"***Research Institute for Experimental Diagnosis and Treatment, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS, Moscow***Abstract**

The effective modern informational technology of the new agent registration at the N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center Databank on antitumor substances is described. The technology permits to standardize the data presentation in computer Database to the maximum and to reduce the time and mistakes during the data input.

Key words: the Databases, antitumor substances, experimental cancer chemotherapy.

Введение

Для накопления, обобщения и эффективного использования результатов исследований по синтезу, выделению из природного сырья и экспериментальному изучению биологической активности новых отечественных противоопухолевых веществ в РОНЦ РАМН создана Информационная система, или Банк данных по противоопухолевым веществам.

Это — комплекс архива первичных документов, систематизированной картотеки и компьютерной базы данных, которые соответствуют последовательным этапам создания Банка данных, начатого со сбора первичных документов, продолженного формированием систематизированной картотеки, содержащей данные, формализованные в соответствии с определенными правилами, и созданием компьютерной Базы данных, реализованной на IBM-совместимых персональных компьютерах под управлением операционной системы MS Windows и системы управления Базами данных (СУБД) ISIS/Base.

В настоящее время компьютерная База данных имеет объем около 18000 килобайт, содержит химические формулы, номенклатурные признаки, физико-химические свойства, результаты изучения биологической активности около 12000 синтетических веществ и природных экстрактов, изучавшихся в качестве потенциальных противоопухолевых препаратов с 1952 г. по настоящее время [1; 2].

Необходимое условие эффективного использования Базы данных для справочно-информационного обеспечения разработчиков новых противоопухолевых лекарств и аналитических исследований в предметной области «Экспериментальная химиотерапия опухолей», в особенности в системе доэкспериментального скрининга потенциальных противоопухолевых веществ, — ее наполнение корректными унифицированными данными по химическому строению, свойствам и активности веществ.

Около половины всех данных по веществу вводится в Базу данных при его первичной регистрации в Банке данных. Эти данные составляют номенклатурно-химический модуль Базы данных [4; 5].

Цель работы

Создание современной информационной технологии первичной регистрации новых веществ в Банке данных РОНЦ, обеспечивающей правильный и быстрый ввод унифицированной информации в компьютерную Базу данных в объеме, соответствующем потребностям ее последующего использования, тестирование использования этой технологии для выявления ее преимуществ, ограничений и направлений совершенствования.

Материалы и методы

При создании и тестировании описанной технологии использованы СУБД ISISBase и программа ISISDraw, Elsevier MDL [6], разработанные ранее структура, интерфейсы пользователя и лингвистические средства компьютерной Базы данных по противоопухолевым веществам РОНЦ РАМН [3-5].

Результаты и обсуждение

Все вещества, передаваемые на изучение биологической активности в подразделения НИИ ЭДИТО РОНЦ РАМН, регистрируются в Банке данных по противоопухолевым веществам. При первичной регистрации нового вещества ему присваивается уникальный идентификационный номер (*IDcomp*).

IDcomp используется при первичном занесении в компьютерную Базу данных сведений, позволяющих однозначно идентифицировать вещество и необходимых для проведения корректных биологических экспериментов, а также при последующем вводе

Таблица 1

Структура Базы данных *Pasport.db* (Электронный паспорт)

№ п/п	Имя поля	Содержание поля
1	ID	Порядковый номер записи – автоматически создается СУБД ISISBase
2	IDcomp	Идентификационный номер – формируется при регистрации по правилу XXXXУУУ – XXXX – год регистрации, УУУ – порядковый номер вещества при регистрации в текущем году
3	confidential	Конфиденциальность
4	organization	Организация, в которой вещество синтезировано или выделено из природного сырья
5	authors	Ф.И.О. химиков, синтезировавших или выделивших вещество из природного сырья
6	obtaining_technique	Способ получения
7	shifr_chem	Шифр, присвоенный веществу авторами
8	names_chem_rus	Химические названия вещества по различным химическим номенклатурам на русском языке
9	names_chem_engl	Химические названия вещества по различным химическим номенклатурам на английском языке
10	other_names_rus	Тривиальное название и синонимы на русском языке
11	other_names_engl	Тривиальное название и синонимы на английском языке
12	biotype	Тип организма, из которого выделено природное вещество (экстракт)
13	family_rus	Семейство организма, из которого выделено природное вещество (экстракт), на русском языке
14	family_lat	Семейство организма, из которого выделено природное вещество (экстракт), на латинском языке
15	kind_rus	Вид организма, из которого выделено природное вещество (экстракт), на русском языке
16	kind_lat	Вид организма, из которого выделено природное вещество (экстракт), на латинском языке
17	kind_engl	Вид организма, из которого выделено природное вещество (экстракт), на английском языке
18	harvesting_place	Место сбора природного сырья
19	harvesting_time	Время сбора природного сырья
20	raw_materials_supplier	Поставщик природного сырья
21	raw_materials_description	Описание частей организма, послуживших сырьем для выделения природного вещества (экстракта)
22	preparation_description	Описание природного экстракта
23	structure	Структурная химическая формула
24	*fmula_structure	Брутто-формула
25	*mol.weight_structure	Молекулярная масса
26	saltdata	Сольватная часть молекулы
27	composition_empiric	Элементный состав, определенный эмпирическим путем

28	CHEM_CLASSES	ХИМИЧЕСКИЕ КЛАССЫ
29	chem_class_name	Название химического класса
30	stereo_isomer	Сtereo изомер (если вещество обладает пространственной изомерией)
31	optic_isomer	Оптический изомер (если вещество обладает оптической изомерией)
32	phys_chem_data	Перечень имеющихся для вещества результатов физико-химического анализа
33	state_of_aggregation	Агрегатное состояние
34	outward_appearance	Описание внешнего вида
35	density	Плотность
36	melting_point	Температура плавления
37	boiling_point	Температура кипения
38	hygroscopicity	Гигроскопичность
39	stability	Устойчивость во внешней среде
40	keeping_conditions	Условия хранения
41	SOLUBILITY:	РАСТВОРИМОСТЬ
42	solvent	Растворитель
43	level_of_solubility	Степень растворимости
44	logP	Логарифм коэффициента распределения в системе октанол/вода
45	N_O	Суммарное число атомов N и O в молекуле
46	H_Donors	Число доноров водородных связей в молекуле
47	H_Accept	Число акцепторов водородных связей в молекуле
48	Rot_Bond	Число вращаемых связей в молекуле
49	PSA	Площадь полярной поверхности молекулы
50	additional_comments_chem	Дополнительные сведения
51	references_chem	Ссылки на публикации (если они есть)
52	certificate_is_formulated	ФИО лица, составившего паспорт
53	handed_to_biologists	ФИО биологов, которым вещество передавалось для изучения

в Базу данных вновь полученной информации по результатам биологического изучения, редактировании данных, поиске информации и при составлении всех видов отчетных документов по веществу.

Заносимые в компьютерную Базу данных при первичной регистрации вещества сведения извлекаются из паспорта, составляемого химиками – авторами синтеза вещества или его получения из природного источника. В разные годы объем, типы и характер структурирования данных, представляемых в паспорте на бумажном носителе, изменялись незначительно. Эти данные представляют собой номенклатурные признаки и полученные эмпирическим путем химические данные, характеризующие химический состав, строение и физико-химические свойства вещества, в объеме, необходимом экспериментаторам для правильного планирования и проведения биологического изучения и полноценного анализа его результатов.

После первичной регистрации в Банке данных один экземпляр паспорта на бумажном носителе с указанным на нем идентификационным номером и образец вещества передаются для проведения биологических испытаний в соответствующее экспериментальное подразделение, второй идентичный экземпляр паспорта хранится в картотеке Банка данных.

Использование технологии ручного ввода паспортных данных в компьютер в течение ряда лет выявило целый ряд сложностей. Во-первых, ручной ввод данных занимает много времени, во-вторых, он неизбежно сопряжен с субъективными ошибками составителя паспорта и оператора по вводу данных в компьютер. Кроме того, оператор по вводу данных должен обладать достаточно высокой квалификацией в области химии, в особенности по номенклатуре и классификации органических соединений. Только в этом случае он может самостоятельно осуществлять полноценный предмашинный контроль данных, содержащихся в паспорте, и избежать специфических ошибок при вводе химических данных. В противном случае возникает необходимость консультаций с составителями паспорта или независимыми экспертами-химиками.

СУБД ISISBase после ввода в компьютер структурной формулы автоматически генерирует бруттоформулу и химическое название вещества по IUPAC (с определенными ограничениями по химической структуре молекулы), рассчитывает молекулярную массу. В случае расхождения сгенерированных данных с данными, имеющимися в паспорте, возникает необходимость корректировки паспортных данных, что также вызывает необходимость дополнительных консультаций с составителями паспорта.

Возможность автоматического импорта данных средствами СУБД ISISBase из одной Базы данных в другую, широкое внедрение в практику работы химиков компьютерной техники и специализированных программных средств для обработки химической информации послужило предпосылкой разработки системы «Электронного паспорта» и постепенного перехода при первичной регистрации веществ от ручного ввода данных к использованию импорта данных из «Электронного паспорта».

«Электронный паспорт» является Базой данных формата ISISBase с названием *Pasport.db*. В структуру Базы данных *Pasport.db* входят поля регистрационного (номенклатурно-химического) модуля Базы данных по противораковым веществам, то есть она является ее подмножеством.

Кроме полей, содержащих данные, полученные экспериментальным путем, в структуру Базы данных *Pasport.db* введены также поля, содержащие расчетные параметры, характеризующие так называемые

«лекарствовоподобие» или «нелекарствовоподобие» вещества. Это **logP** (логарифм коэффициента распределения в системе «октанол – вода», характеризует различную растворимость вещества в двух несмешивающихся растворителях); **H_Donors** (число донорных водородных связей в молекуле); **H_Accept** (число акцепторных водородных связей в молекуле); **Rot_Bond** (число вращающихся связей в молекуле). Для расчета этих данных по структурной формуле вещества могут быть использованы различные прикладные химические программные средства, например, программа ACDlab®, которая в настоящее время имеется в пользовании большинства химиков. Структура Базы данных *Pasport.db* представлена в табл. 1. (см. стр. 68-69)

База данных *pasport.db* имеет 3 интерфейса пользователя (экранные формы для ввода данных), которые можно загружать в зависимости от особенностей ввода конкретных данных. При составлении паспорта на синтетическое вещество рекомендуется использовать экранную форму «*pasport synt*», паспорта на вещество (экстракт) природного происхождения – экранную форму «*pasport nature*». Эти экранные формы содержат ячейки для заполнения полей с данными для веществ только синтетического или только природного происхождения, соответственно.

Экранная форма «*pasport tol*» содержит ячейки, соответствующие всем полям Базы данных *pasport.db*, и может использоваться при заполнении паспортов на вещества обоих типов. Ее недостатком по сравнению с двумя первыми формами является меньший размер ячейки (из-за одновременного размещения на экране большего количества полей), что несколько затрудняет работу при вводе данных. Интерфейсы пользователя базы данных *pasport.db* представлены на рисунках 1–3.

Для унификации терминов, используемых при заполнении «Электронного паспорта», ряд полей снабжено словарями (или справочниками), из которых при вводе нужный термин может быть автоматически перенесен в соответствующее поле без ручного набора. Это позволяет значительно ускорить ввод данных и избежать многих ошибок. С целью стандартизации представления данных в «Электронном паспорте» разработана подробная инструкция, регламентирующая ввод данных в каждое из полей «Электронного паспорта».

Специалисты – химики, имеющие программу ISISBase и умеющие работать с ней, могут получить в группе Банка данных комплект файлов для заполнения «Электронного паспорта», в состав которого входят незаполненная База данных *Pasport.db*, три отдельных файла с интерфейсами для ввода данных с расширением *.frm*, текстовые файлы с терминологическими словарями и правилами ввода данных. Эти файлы можно также скачать с сайта РОНЦ РАМН [7]. Консультации по заполнению «Электронного паспорта» можно получить непосредственно в группе Банка данных НИИ ЭДнТО РОНЦ или по электронной почте databankgroup@ronc.ru.

Исследователи, не имеющие возможности работать с СУБД ISISBase, но владеющие информационными технологиями, могут подготовить паспорт в виде электронной таблицы текстового формата, строки которой соответствуют полям «Электронного паспорта». Файл с этой таблицей также можно получить в группе Банка данных. Специалисты, не имеющие возможности подготовить паспорта в электронном виде, могут получить в группе Банка данных бумажные бланки, полностью соответствующие интерфейсам заполнения электронных паспортов (см. рис. 1-3). В обоих последних случаях химики обеспечиваются инструкцией по заполнению паспортов в бумажном или электронном виде. Заполненные паспорта могут быть переданы в группу Банка данных непосредственно или по электронной почте.

ID	конфиденциальность	организация	авторы	способ получения	авторский шифр	паспорт заполнил	передается биологам	IDcomp			
Структурная формула				logP	другие названия						
				N_O							
				H_Donors							
				H_Accept							
				имеющиеся данные ФХА				стерео изомер		оптический изомер	
								агрегатное состояние		внешний вид	
								плотность	т-ра плавления	т-ра кипения	гигроскопичность
				стабильность				условия хранения			
				брутто-формула				мол. масса		сольватная часть	
элементный состав				растворитель							
химические названия по IUPAC и др. номенклатурам				уровень растворимости							
дополнительная информация				литт. ссылки (если есть)							

Рис. 1. Экранная форма «*passport_sunt*» для ввода паспортных данных на синтетическое вещество.

ID	конфиденциальность	организация	авторы	способ получения	авторский шифр	паспорт заполнил	передается биологам	IDcomp
Таксономия источника выделения вещества (экстракта) названия								
тип	семейство (русск.)	семейство (лат.)						
вид (русск.)	Химические классы							
вид (лат.)								
вид (англ.)								
		имеющиеся данные ФХА		агрегатное состояние		внешний вид		
		плотность	т-ра плавления	т-ра кипения	гигроскопичность			
		стабильность		условия хранения				
Характеристики сырья Растворимость								
место сбора	время сбора							
поставщик	растворитель уровень растворимости							
описание сырья								
описание природного вещества (экстракта)		дополнительная информация				лит. ссылки (если есть)		

Рис. 2. Экранная форма «passport nature» для ввода паспортных данных на вещество природного происхождения

ID	конфиденциальность	организация	авторы	способ получения	авторский шифр	паспорт заполнил	передается биологам	IDcomp
Структурная формула		IogP	N_O	H_Donors		<i>Таксономия источника выделения природного вещества</i> тип семейство (русск.) семейство (лат.) вид (лат.) вид (русск.) вид (англ.)		
		H_Accept	Rot_Bond	PSA				
		стерео изомер	оптич. изомер	данные ФХА				
		плотность	т-ра плавления	т-ра кипения				
		агрегатное состояние	внешний вид					
		гигроскопичность		стабильность	<i>Характеристики сырья</i> место сбора время сбора поставщик описание сырья описание природного вещества (экстракта) дополнительная информация: лит. ссылки (если есть)			
		условия хранения						
брутто формула		мол. масса	<i>Растворимость</i> растворитель степень растворимости					
солевая часть		элементный состав						
химич. названия по IUPAC и др. номенклатурам								
другие названия								
			<i>Химические классы</i>					

Рис. 3. Экранная форма «*passport_iog*» для ввода паспортных данных на вещества как синтетического, так и природного происхождения

В течение 2006-2008 гг. паспорта на синтетические вещества и природные субстанции, поступающие на первичную регистрацию в БД РОНЦ, составлялись химиками – авторами веществ как традиционным способом с использованием бумажных бланков, так и в электронном виде с использованием «**Электронного паспорта**» или текстовой таблицы при консультировании специалистами группы Банка данных. При первичной регистрации новых веществ в Банке данных использовались как ручной ввод данных, так и импорт данных из «**Электронного паспорта**».

Значительным преимуществом использования «**Электронных паспортов**» при первичной регистрации новых веществ для автоматического импорта паспортных данных непосредственно в Базу данных явилась возможность значительного сокращения времени ввода данных. Одновременно значительно уменьшалось число ошибок ввода, что также приводило к дальнейшему сокращению времени на их исправление. Использование терминологических словарей исключало необходимость ручной замены нестандартных терминов унифицированными. Дополнительным преимуществом обеспечения химиков Базой данных *Pasport.db* является возможность авторам формировать собственную Базу данных по веществам, передаваемым на изучение биологической активности, совпадающую по структуре с Базой данных по противоопухолевым веществам РОНЦ. При этом автор получает дополнительную возможность самостоятельно выявлять уже на этапе составления паспорта возможные ошибки в представлении структурных формул, брутто-формул, химических названий и молекулярной массы веществ, которая обеспечивается указанными возможностями СУБД ISISBase, и сразу, до передачи паспорта в группу Банка данных, корректировать эти данные.

Уменьшение ошибок в этих полях, содержащих ключевые данные, характеризующие строение вещества, способствует более полноценному использованию информации из Базы данных в исследованиях по связи структура – активность и при прогнозировании биологической активности веществ по структуре.

При использовании при регистрации новых веществ заполненной авторами Базы данных *Pasport.db* выявлены различные подходы авторов к построению с помощью программы ISISDraw структурных формул таких сложных веществ как комплексные соединения, солевые, многокомпонентные системы.

В настоящее время для стандартизации структурно-химической информации, содержащейся в Базе данных по противоопухолевым веществам РОНЦ, разрабатываются единые методические рекомендации для электронного представления структурных формул веществ, с тем, чтобы использовать их уже на стадии подготовки «**Электронных паспортов**» на новые вещества.

Заключение

Современная информационно-технологическая методика регистрации веществ в Банке данных по противоопухолевым веществам РОНЦ с помощью «**Электронных паспортов**» значительно ускоряет и облегчает ввод информации в общую компьютерную Базу данных, обеспечивает значительную стандартизацию данных, являющуюся необходимым условием полноценного поиска информации в Базе данных и эффективного использования Базы данных.

Ограничивает использование этой методики недостаточное обеспечение исследователей компьютерной техникой и программами.

Литература

1. *Апрышко Г.Н.* Информационная система РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН по противоопухолевым агентам. Общий обзор // НТИ. Сер. 2. – 2007. – №1. – С.18-22.
2. *Апрышко Г.Н.* База данных по противоопухолевым веществам НИИ ЭДиТО Онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина РАМН. Российский биотерапевтический журнал. – 2008. – №2 – С. 49-53.
3. *Апрышко Г.Н., Решетникова В.В.* Лингвистическое обеспечение электронной базы данных РОНЦ РАМН по противоопухолевым препаратам. // Рукопись деп. в ВИНТИ РАН 19.07.06., № 976-B2006. - 60с.
4. *Апрышко Г.Н., Решетникова В.В.* Регистрационно-номенклатурный и химический модули электронной базы данных Информационной системы по противоопухолевым агентам // НТИ. Сер. 2. – 2007. – №6. – С.24-31.
5. *Решетникова В.В., Апрышко Г.Н.* Номенклатурно-химическая информация в Банке данных по противоопухолевым веществам ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН // Вестник РОНЦ. – 2007 – №3. – С.9-14.
6. http://www.mdl.com/products/framework/isis_base
7. <http://www.ronc.ru/databankgroup>

Поступила 29.10.2008

Н.И. Переводчикова, А.А. Феденко***ОСОБЕННОСТИ МЕТОДИКИ КЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ ТАРГЕТНЫХ ПРЕПАРАТОВ**

ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, 115478 Москва, Каширское ш., 24

Резюме

Особенности механизма действия таргетных препаратов определяют необходимость усовершенствования традиционной методики клинических испытаний новых препаратов. На ранних этапах клинических испытаний и разработки новых подходов к проведению клинических испытаний I, II, III фазы особое значение имеет сопоставление ответа на применение нового препарата с молекулярно-биологической характеристикой опухоли, т.е. определение маркера-классификатора, имеющего предсказательное значение и используемого для отбора потенциально чувствительных больных для более поздних фаз клинических испытаний. Обсуждается возможность использования так называемой «0» фазы клинических испытаний, когда еще до проведения I фазы оценивается биологическая активность нового препарата.

Ключевые слова: «0» фаза, клинические испытания, таргетная терапия.

*N.I. Perevodchikova, A.A. Fedenko***NEW APPROACH TOWARD CLINICAL TRIAL DESIGN OF TARGETED AGENTS**

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center of RAMS, Moscow

Abstract

The molecular mechanisms of targeted antitumor agents action requires a new approach for the design of their clinical trials and a reevaluation of the traditional recommendations for phase I, II and III trials. During the early stages of clinical development, the identification of a biomarker with a predictive value which can be used as potential responders is of crucial importance. The possibility of early (before phase I) evaluation of biological activity of new investigational drugs in humans (phase 0) is discussed.

Key words: phase «0», clinical trials, target agents.

Введение

Успехи молекулярной биологии конца XX–начала XXI вв., позволившие установить механизмы регуляции деления и гибели клеток, открыли перспективы создания противоопухолевых препаратов молекулярно-нацеленного действия, получивших название таргетных препаратов (англ. *target* – мишень).

За 10 лет, прошедших с момента сообщения об эффективности первого препарата этой группы трастузумаба (ГерцептинTM), в клиническую практику вошел ряд таргетных препаратов, принципиально изменивших подходы к терапии больных гемобластомами и существенно расширивших возможности лечения больных с солидными опухолями.

В табл. 1 приводятся данные о мишенях и спектре противоопухолевой активности основных групп таргетных препаратов, реально используемых сегодня в клинике.

Это, в частности, моноклональные антитела к экстрацеллюлярному домену эпидермального фактора роста (EGFR) и ингибиторы рецепторных тирозинкиназ рецепторов EGFR, антиангиогенные препараты, включая ингибиторы фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), мультитаргетные ингибиторы киназ, нерепепторные моноклональные антитела и их конъюгаты, а также ингибиторы протеасом.

После изучения первых таргетных препаратов в клинической практике были интенсифицированы работы по развитию этого направления.

В результате появилось множество проходящих в настоящее время клинических испытаний противоопухолевых препаратов из числа таргетных, то есть молекулярно нацеленных.

Таргетные препараты принципиально отличаются от классических противоопухолевых тем, что действуют только на те опухолевые клетки, которые

экспрессируют большое число соответствующих мишеней. При этом реализуется не цитотоксическое, а, в основном, цитостатическое действие.

Соответственно возникла необходимость в усовершенствовании традиционных подходов к клиническим испытаниям новых противоопухолевых препаратов.

Современные клинические испытания новых противоопухолевых препаратов начинаются с I фазы, во время которой определяется переносимость нового препарата, определяется величина максимально переносимой дозы (МПД), а также, по возможности, отработывается терапевтический режим.

Во время II фазы клинических испытаний у относительно небольших групп больных с различными типами опухолей уточняется терапевтическая схема применения нового препарата, оценивается эффективность лечения по шкалам RECIST либо WHO и спектр противоопухолевого действия препарата.

Результаты II фазы клинических испытаний позволяют судить о клинической ценности нового препарата для определенной популяции больных и о целесообразности проведения III фазы клинических испытаний, позволяющей оценить эффективность нового препарата в монорежиме или в комбинированной химиотерапии в сравнении с лучшими существующими схемами (стандартами лечения).

С появлением таргетных препаратов, которые действуют только при многократном применении и не проявляют цитотоксичности, потребовались абсолютно новые подходы.

Соответственно этому задачам I фазы клинических испытаний таргетных препаратов стало не только определение дозы, которая могла бы использоваться повторно, но и, прежде всего, подтверждение ингибирования адресной мишени при применении этой конкретной дозы.

Таблица 1

Таргетные препараты, получившие клиническое применение

Препарат	Мишень	Противоопухолевое действие
Ингибиторы рецепторов эпидермального фактора роста (EGFR)		
а) моноклональные антитела к рецепторам EGFR		
Трастузумаб (Герцептин)	Her2/neu	Her2/neu-позитивный РМЖ
Цетуксимаб (Эрбитукс)	EGFR1	КРР, плоскоклеточный рак головы и шеи, НМРЛ
Панитумумаб (Вектибикс)	EGFR	КРР
б) ингибиторы тирозинкиназ EGFR		
Эрлотиниб (Тарцева)	EGFR1	НМРЛ, рак поджелудочной железы
Гефитиниб (Иресса)	EGFR1	НМРЛ
Лапатиниб (Тайкерб)	EGFR1, EGFR2 (Her2/neu)	Her2/neu-позитивный РМЖ
Ингибиторы ангиогенеза		
а) моноклональные антитела к рецепторам VEGF		
Бевацизумаб (Авастин)	VEGF	КРР, НМРЛ, рак почки, РМЖ
б) ингибиторы тирозинкиназ		
Сунитиниб (Сутент)	VEGFR, PDGFR, C-kit, FLT3, CSF1, ret, EGFR1	Почечно-клеточный рак, GIST
Сорафениб (Нексавар)	C-RAF, EGFR2/3, PDGFR	Почечно-клеточный рак, гепатоцеллюлярный рак
Мультитаргетные ингибиторы киназ ингибиторы внутриклеточной передачи сигнала		
Иматиниб (Гливек)	TK, Bcr-Abl, PDGF, SCT, C-kit	ХМЛ, ОЛЛ, GIST
Дасатиниб (Sprycel)	Bcr-Abl, C-kit, PDGF	ХМЛ, ph ⁺ ОЛЛ
Нерецепторные моноклональные антитела МКА против мембранных нерецепторных антигенов		
Ритуксимаб (Мабтера)	CD20 В-кл. лимфоцитов	В-клеточная НХЛ и ХЛЛ, экспрессирующий В-маркер
Алемтузумаб (Кэмпас)	CD52	ХЛЛ, В-клеточная НХЛ
Ингибиторы протеасом (ингибиторы деградации белков)		
Бортезомиб (Велкейд)	Протеосома 26S	Миеломная болезнь

При наличии достоверного теста для определения мишени *in vivo* эскалация дозы таргетного препарата может проводиться под контролем наиболее значимых показателей этого теста. Однако, как правило, такие данные на этом этапе отсутствуют.

I фаза клинических испытаний

I фаза клинических испытаний таргетного препарата в классическом режиме проводится с эскалацией дозы для определения МПД и затем дозы для повторного введения, которая обычно ниже. Затем набирается новая группа больных, которая получает эту разовую дозу с целью определить, насколько эффективно она ингибирует терапевтическую мишень.

У следующей группы больных, получающих окончательно выбранную дозу, после завершения терапии при возможности проводится биопсия опухоли для детального изучения биологических тестов. Это исследование направлено на уточнение биомаркеров, с помощью которых можно выявить дополнительные мишени для исследований II фазы клинических испытаний [5; 6].

II фаза клинических испытаний

Вторая фаза клинических испытаний таргетных препаратов обычно включает оценку непосредственного эффекта применения противоопухолевого препарата при определенном типе опухоли в относительно небольшой группе больных. Если в результате лечения у 20 и более % больных опухоль уменьшилась не менее, чем на 30–50 %, делается положительное заключение о наличии противоопухолевой активности у исследованного препарата при данном виде опухолей, после чего решается вопрос о его дальнейшем изучении.

Для таргетных препаратов, которые оказывают в основном цитостатическое действие, критерий уменьшения опухоли малопригоден. В принципе таргетные препараты могут вызывать уменьшение опухоли, однако степень уменьшения опухоли либо замедления ее роста под влиянием таргетного препарата определяется пропорцией клеток опухоли, рост которых зависит от стимулирующего влияния мишени. Если использовать критерий непосредственно уменьшения опухоли в процессе II фазы, многие таргетные препараты были бы оценены как неэффективные. В табл. 2 представлены данные E. Eisenhauer et K. Gelmon [3] о результатах клинического изучения II фазы некоторых успешно применяемых в клинической практике таргетных препаратов.

Если пользоваться классическим критерием уменьшения опухоли, только трастузумаб и иматиниб имели бы шансы на дальнейшее углубленное изучение. Парадоксально, но бевацизумаб, в настоящее время один из важных компонентов комбинированной химиотерапии колоректального рака, вообще не изучали по II фазе при этом виде опухоли.

Доказать торможение роста опухоли на этапе II фазы невозможно без рандомизированного сравнительного исследования эффективности влияния изучаемого таргетного препарата на результаты стандартной терапии.

Одним из критериев эффективности является, например, время до прогрессирования. Как было предложено в исследовании II фазы группой R. Simon, такая фаза является по сути «2,5-ной» фазой, но авторы отмечают, что она не может быть альтернативой III фазы клинических испытаний [5].

Еще одна возможность оценить объективно степень торможения роста опухоли под действием таргетного препарата – это рандомизированное прекращение терапии [1]. Если применение нового таргетного препарата в монорежиме либо в сочетании с другим агентом ведет к стабилизации процесса, больные рандомизируются на 2 подгруппы: в одной терапии продолжается, в другой – прекращается. Оценивается и сравнивается время до прогрессирования в этих двух подгруппах. Такой дизайн был с успехом использован при изучении сорафениба у больных диссеминированным почечно-клеточным раком.

Важнейшей задачей II фазы клинического изучения таргетного препарата является разработка маркера-классификатора, который позволил бы включать в исследования III фазы больных, опухоли которых потенциально имели бы мишень для реализации чувствительности к данному препарату. При изучении таргетного препарата по III фазе в группе т.н. «случайных» больных без сведений о маркере, способом предсказать его эффективность, высок риск получения отрицательных результатов. Так, например, при использовании ингибиторов ТК EGFR1 гефитиниба и эрлотиниба у больных НМРЛ экспрессия рецептором EGFR в опухоли ещё не позволяет прогнозировать вероятность ответа.

Исследования показали, что предсказательным фактором, указывающим на потенциальную чувствительность НМРЛ к ингибиторам тирозинкиназ EGFR, являются специфические мутации гена тирозинкиназного внутриклеточного домена EGFR. Так, эрлотиниб в режиме монокимиотерапии НМРЛ контролирует болезнь при мутированном EGFR у 75 % больных, при отсутствии мутации – у 7 %.

Мутации гена в экзонах 18–24, кодирующих тирозинкиназный домен EGFR, чаще всего обнаруживаются при аденокарциноме и бронхиолоальвеолярном раке легкого у женщин азиатского происхождения, никогда не куривших. В клинической практике эти характеристики больных нередко используются как суррогатные предсказательные факторы при решении вопроса о назначении ингибиторов тирозинкиназы EGFR.

Для разработки во время проведения II фазы биомаркера-классификатора необходимо располагать качественными блоками опухолей всех включенных в исследование больных.

Таблица 2

Результаты II фазы клинического изучения таргетных препаратов

Препарат	Диагноз	Эффективность, %
Гефитиниб	НМРЛ, РАК ГОЛОВЫ/ШЕИ	10 – 15
Эрлотиниб	НМРЛ, Рак головы/шеи; Рак эндометрия; Рак яичников	10 – 15 12 / 9
Цетуксимаб	Рак головы/шеи	17
Трастузумаб	РМЖ	10 – 20
Иматиниб	GIST	≈ 50
Бевацизумаб	РМЖ	5 – 10
	Рак почки	5
	Рак яичников	18
	Колоректальный рак	Не исследовалась

При включении достаточно большого количества пациентов после проведенного лечения должны быть сопоставлены его результаты и результаты исследования опухоли (иммуногистохимическое, FISH-амплификация и изучение профиля экспрессии генов, исследование ДНК). При обнаружении достоверной корреляции между показателями биологического маркера и ответа опухоли на воздействие таргетного препарата, т. е., при получении данных о предсказательной ценности маркера-классификатора, проводится новая II фаза исследований.

Это необходимо, чтобы достоверно оценить классификатор, который в дальнейшем будет использован в III фазе клинических испытаний нового таргетного препарата. Дизайн такого рода исследования II фазы, имеющего целью разработку маркера-классификатора, предсказывающего потенциальный ответ на таргетный препарат, представлен на рисунке. [5].

III фаза клинических испытаний

III фаза клинических испытаний играет решающую роль в судьбе каждого нового препарата. Именно в процессе рандомизированных крупных мультицентровых исследований апробируются новые терапевтические режимы, реально улучшающие результаты лечения больных. Особое значение такие исследования имеют именно для оценки таргетных препаратов, которые, как правило, используются в сочетании с традиционными цитотоксическими противоопухолевыми препаратами. Поэтому особое значение имеет включение в исследование достаточно репрезентативных и тщательно отобранных групп больных. Для этих исследований наиболее ценно использование маркера-классификатора. Успех исследований с включением трастузумаба в значительной степени объясняется тем, что имелись четкие критерии отбора больных в масштабные исследования этого препарата.

Вопрос о методике клинических испытаний таргетных препаратов, начиная с 2003 г., активно дебатировался на проводимых ежегодно международных симпозиумах по таргетной противоопухолевой терапии (International Symposium on Targeted Anticancer Therapy), организованных исследовательским фондом NDDO, ESMO и NCI при участии представителей FDA и EMEA. В частности, неоднократно обсуждалась проблема так называемой «0» фазы клинических испытаний – первого применения у человека нового исследовательского препарата с целью подтверждения его биологической активности ещё до I фазы клинических испытаний [2; 5].

В США в 2006 г. FDA выпустило документ рекомендательного характера, посвященный проведению поисковых исследований новых исследовательских препаратов в самом начале I фазы клинических испытаний [4]: короткое (не более 7 дней) исследование препарата в субтерапевтических дозах у небольшого числа пациентов, которое имеет целью подтвердить у человека выявленный в экспериментальных системах механизм действия препарата. В рамках этого исследования можно также получить первые данные о фармакокинетике и биораспределении препарата. Стандартные же задачи традиционной I фазы клинических испытаний (определение переносимости и отработка дозового режима) на этом этапе не решаются. Поисковое исследование нового исследовательского препарата менее рискованно, чем традиционное исследование I фазы, в котором обязательно достигается дозозамещающая токсичность. Соответственно, проведение поискового исследования IND может быть начато при меньшем доклиническом обеспечении [4].

Заключение

Особенности таргетных препаратов определяют важность разработки специализированной методики их клинических испытаний.

Особое значение при этом имеет сопоставление на первых этапах клинических испытаний ответа на терапию с молекулярно-биологической характеристикой опухоли и разработка биомаркеров-классификаторов, имеющих предсказательное значение.

Эти биомаркеры могут быть использованы не только в более поздних стадиях клинических испытаний для отбора соответствующих контингентов больных, но и в дальнейшем при практическом применении препарата для индивидуализации терапии.

Оценка цитостатического действия таргетных препаратов требует использования рандомизации не только в процессе III фазы, но и при проведении II фазы клинических испытаний для объективной оценки торможения роста опухоли.

То обстоятельство, что большинство современных таргетных препаратов оказывают наиболее выраженный противоопухолевый эффект в составе лекарственных комбинаций с классическими противоопухолевыми препаратами, определяет особое значение крупных многоцентровых рандомизированных исследований III фазы, позволяющих объективно оценить новые терапевтические режимы.

Поступила 15.04.2008.

Критерии отбора больных: наличие блока опухоли + измеряемые очаги поражения + минимум предшествующего лечения →	100 – 200 больных (по 25 на каждый тип опухоли) →	Оценка клинического эффекта →
Исследование биомаркера в биоптатах всех больных (ответивших и не ответивших на лечение) →	Разработка маркера-классификатора, предсказывающего ответ →	Оценка маркера-классификатора в новой II фазе

Рис. Новый дизайн II фазы клинического изучения таргетных препаратов [6]

Литература

1. *Buyse M.E.* Role of Stratification and Randomization in Early Trials of Targeted Agents // ASCO. – Educational Book. – 2006. – P. 119–21.
2. *Doroshov J.* Phase “0” Trials // 5th International Symposium on Targeted Anticancer Therapies. – 2007. – 0802.
3. *Eisenhauer E.A., Gelmon K.* Phase II Clinical Design in 2006: Endpoints for Screening Trials // ASCO. – Educational Book. – 2006. – P. 122–5.
4. Guidance for Industry, Investigators and Reviewers, Exploratory IND Studies, US Department of Health and Human Service, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), January 2006. – 26 p.
5. *Palmer S., Pignatti F., Jonsson B.* Role of Biomarkers in the Regulatory Process // 5th International Symposium on Targeted Anticancer Therapies. – 2007. – 0801.
6. *Simon R.* Re-Examination of the Design of Early Clinical Development trials for Molecularly Targeted Drugs // ASCO. – Educational Book. – 2006. – P. 126–9.
7. *Simon R.* Transforming Correlative Science to Predictive Personalized Medicine // The Role of Biomarkers in Therapeutics Development. – ASCO. – Educational Book. – 2006. – P. 113–8.

УДК 616.24-006.6-092.9:615.277.3

Н.А. Лесная, В.С. Покровский, В.И. Романенко, Е.М. Трещалина

ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ПЕРЕНОСИМОСТЬ ТРОЙНОЙ КОМБИНАЦИИ С ВКЛЮЧЕНИЕМ ЭТОПОЗИДА, ЦИСПЛАТИНА И АРАНОЗЫ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЭПИДЕРМОИДНОЙ КАРЦИНОМЫ ЛЕГКОГО ЛЬЮИС У МЫШЕЙ
ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, 115478 Москва, Каширское ш., 24**Резюме**

Представлены результаты доклинического изучения комбинации *EPAr* – этопозид+цисплатин+араноза – на мышцах-самцах *BDF₁* с подкожно или внутримышечно трансплантированной эпидермоидной карциномой легкого Льюис. Использована схема последовательного внутрибрюшинного (в/б) введения препаратов 3-дневным курсом в дозах: этопозид 5–15 мг/кг, цисплатин 2–3 мг/кг, араноза 100–200 мг/кг. Показан значимый синергизм комбинантов в комбинации *EPAr* при удовлетворительной переносимости лечения. *EPAr* в сравнении со стандартной схемой полихимиотерапии мелкоклочного рака легкого *EP* достоверно более эффективна и не приводит к повышению риска гематологической токсичности.

Ключевые слова: полихимиотерапия, карцинома легкого Льюис, этопозид, цисплатин, араноза.

N.A. Lesnaya, V.S. Pokrovsky, H.M. Treshalina, V.I. Romanenko

EFFICACY AND TOLERANCE OF TRIPLE COMBINATION WITH ETOPOSIDE, CISPLATIN AND ARANOSA ON MICE WITH LEWIS LUNG CARCINOMA

Blokhin Cancer research Center of RAMS, Moscow, Russia

Abstract

Promising new anticancer cytostatic of nitro urea derivative Aranosa was administrated simultaneously with Cisplatin and Etoposide to BDF₁ mice bearing s.c. or i.m. Lewis lung carcinoma (LLC). Etoposide 5–15 mg/kg body weight, Cisplatin 2–3 mg/kg and Aranosa 100–200 mg/kg were given i.p. The significant synergism of EP Ar combination has been demonstrated in recovery of mice bearing s.c. or i.m. LLC. The therapeutic efficacy and tolerance of triple combined therapy with EP Ar in combination with standard double combination EP were evaluated. The high risk of Hematological toxicity was not observed.

Key words: combined chemotherapy, Lewis Lung carcinoma, Etoposide, Cisplatin, Aranosa.

Введение

Полихимиотерапия является основным методом лечения мелкоклочного рака легкого и диссеминированного немелкоклеточного рака легкого. Эффективность современных схем ПХТ достигает 70–80% при МРЛ и только 20–30% при НМРЛ. Однако высокая частота объективных эффектов не приводит к улучшению отдаленных результатов лечения МРЛ вследствие метастазирования и частых рецидивов опухоли. Поэтому разработка новых схем ПХТ рака легкого актуальна.

Основу ПХТ как МРЛ, так и НМРЛ составляют комбинации с включением препаратов платины (цисплатин, карбоплатин). Так, например, «золотым стандартом» лечения МРЛ в конце 1990-х гг. была признана комбинация *EP*. Большинство новых режимов ПХТ разрабатывают на основе *EP*: либо заменяют этопозид, либо добавляют другие препараты. Так, в Японии на 1-й линии лечения МРЛ применяют комбинацию *IP* (иринотекан+ цисплатин) [9–11].

В отделении химиотерапии ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН была разработана тройная комбинация нимустин+этопозид+цисплатин (*AVP*), показавшая выраженную противоопухолевую активность при МРЛ. Авторы особо отмечают активность *AVP* при метастазах в головной мозг.

Недостатки *AVP* связаны с характерной для производных нитрозомочевины отсроченной кумулятивной миелосупрессией и необходимостью длительного контроля кроветворной функции [6]. Один из путей минимизации указанного недостатка схемы *AVP* – замена нимустина отечественным нитрозопроизводным аранозой, которая сравнительно меньше

нарушает кроветворение и не имеет отсроченной токсичности. Кроме того, араноза обладает большим диапазоном терапевтических доз и эффективна в комбинациях с комплексными соединениями платины и другими противоопухолевыми препаратами [3; 5].

При доклиническом изучении на моделях лейкозов и солидных опухолей мышей была показана высокая эффективность аранозы в отношении лимфолейкозов L1210, P388, а также солидных опухолей B16, Ca755, АКАТОЛ, сарком 37 и 180, эпидермоидной карциномы лёгкого Льюис (*LLC*) и др. [4].

Араноза также оказалась эффективной на гетеротрансплантатах различных опухолей человека у бестимусных мышей и крыс, в том числе на лимфоме Беркитта *P3HRI*, меланоме *Me Wo*, саркоме Юинга и НМРЛ [1].

В рамках клинических исследований у больных МРЛ в качестве 2-й линии лечения была изучена комбинация аранозы с доксорубицином и винкристином (*ArDV*). Было показано, что *ArDV* не уступает по эффективности наиболее распространённым схемам лечения, в частности, монотерапии топотеканом (эффективность 23%, медиана продолжительности жизни – 7 мес.) и имеет более благоприятный профиль токсичности. Комбинация *ArDV* оказалась высокоэффективной при метастазах в головной мозг.

Токсичность проявлялась в основном кратковременной анемией, лейкопенией и тромбоцитопенией I–II степеней [2].

Таким образом, включение аранозы в схемы ПХТ рака легкого представляется перспективным. Для обоснования клинического изучения новых схем с аранозой необходима оценка эффективности и переносимости комбинаций в эксперименте.

Цель исследования

Доклиническое изучение эффективности и переносимости комбинации *EPAr*.

Задачи исследования

1. Определение эффективных и переносимых доз препаратов в эксперименте на модели *LLC*.
2. Разработка рационального дозового режима применения комбинации *EPAr in vivo*.

Материалы и методы

Животные. В опытах использовали мышей-самцов гибридных *BDF₁* и линейных *C₅₇Bl* массой тела не менее 18 г из разведения ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. Животных содержали в виварии отдела лабораторных животных ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН с естественным освещением на брикетированном корме и постоянном доступе к воде. Перед лечением мышей распределяли на группы ($n=6-14$). Одну группу оставляли без специфического лечения и считали контрольной ($n=10-12$).

Модель опухоли. Использована метастазирующая в легкие эпидермоидная карцинома легкого Льюис (*LLC*) 2–15 пассажи *in vivo*. Опухоль трансплантировали мышам взвесью клеток в питательной среде 199 п/к или в/м по стандартной методике, принятой в ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН [7; 8].

Препараты. Все препараты вводили в/б ежедневно на 2–4 сут после п/к трансплантации или на 7–10 (10–12) сутки после в/м трансплантации опухоли. Этопозид (*E*) и цисплатин (*P*) вводили в 0,9%-ном растворе натрия хлорида, аранозу (*Ar*) – в 5%-ном растворе глюкозы.

Ar лиофилизированная (производство «Глэс», РФ) во флаконах по 500 мг. 1%-ный раствор *Ar* вводили мышам в/б в разовых дозах 50–200 мг/кг.

E инъекционный раствор (производство «Teva», Нидерланды) во флаконах по 5 мл, содержащих по 100 мг препарата. 0,1%-ный раствор *E* вводили мышам в/б в разовых дозах 2,5–15 мг/кг.

P инъекционный раствор (производство «Ebeve», Польша) во флаконах по 20 мл, содержащих по 10 мг препарата. 0,025% раствор *P* вводили мышам в/б в разовых дозах 2,5–3,0 мг/кг.

В группах комбинированного лечения препараты вводили в последовательности: *E–P–Ar* с интервалом 10–20 мин.

Оценка противоопухолевого эффекта. Эффективность лечения мышей с *LLC* оценивали по стандартным критериям: торможению роста опухоли (ТРО%), увеличению продолжительности жизни (УПЖ%) и излечению животных.

Значимыми считали ТРО $\geq$ 50%, УПЖ $\geq$ 25%. Излеченными считали животных, у которых в течение 60–90 дней опухоль не определялась. Показатели эффективности определяли в сравнении с контрольными группами мышей. Основными характеристиками эффективности тройной комбинации *EPAr* были выбраны отсроченные эффекты лечения, позволяющие достоверно оценить эффективность, – УПЖ – и излечение мышей с метастазирующей в легкие опухолью.

Период лечения (2–4 дни после трансплантации опухоли) соответствовал началу метастазирования.

Оценка переносимости. О переносимости воздействия судили по состоянию и поведению животных, достоверному уменьшению массы тела ($\geq$ 30%) и селезенки (косвенные признаки общей и гематологической токсичности), а также по ожидаемой гибели от токсичности. Павших или умерщвленных в конце опыта мышей подвергали аутопсии для визуального определения патологических изменений внутренних органов.

Статистическая обработка. Полученные данные подвергали статистической обработке по методу Фишера-Стьюдента в модификации Р.Б. Стрелкова, рассчитывая доверительные интервалы средних сравниваемых величин. Достоверны различия при $p<0,05$.

Результаты исследования

Для проведения ПХТ предварительно определили диапазон эффективных и переносимых доз каждого из препаратов на мышах с п/к *LLC*. Использован диапазон разовых доз вплоть до максимально переносимых (МПД) при 3-дневном курсе лечения. Эффективными считали дозы, приводящие на 5–15 сутки после окончания лечения к ТРО $\geq$ 50%.

Полученные данные представлены в табл. 1. Эффективность *Ar* и *P* практически одинакова, ТРО $_{max}$ – 83 и 85% соответственно. Эффективность *E* меньше и даже при максимальной дозе 15 мг/кг не достигла уровня *Ar* и *P*, ТРО $_{max}$ составило 70%.

Во всех случаях эффективность монотерапии удерживалась на минимально значимом уровне ТРО=50–60% только до 14 дня. Продолжительность жизни мышей при этом достоверно возрастала до УПЖ=37% ($p<0,05$) лишь при монотерапии *P*. При использовании *Ar* или *E* отдаленный эффект практически не отличался от контроля, УПЖ=6–16% ($p>0,05$), излечения не наблюдали.

Переносимость всех видов лечения была удовлетворительной, $m_{тела}$ мышей при применении каждого из препаратов практически не снижалась: уменьшение на 8–11% отмечали только при применении высоких доз *Ar* или *E* ($p>0,05$). Кумулятивное уменьшение массы тела мышей не прогнозировали. Уменьшение средней массы селезенки по отношению к контролю на 31–38% ($p<0,05$) отмечали во всех случаях, кроме *E* в дозе 5 мг/кг.

Таблица 1

Эффективность и переносимость монотерапии *E*, *P* или *Ar*

Препарат	РД, мг/кг	Эффективность ХТ				Переносимость ХТ	
		День после окончания ХТ, ТРО%			УПЖ%	↓ $m_{тела}$ на 5 сутки после ХТ, %	↓ $m_{селезенки}$, %
		6	14	22			
<i>E</i>	5	57*	31	22	15	2	9
	15	70*	40	35*	11	11	37*
<i>P</i>	3	85*	61*	51*	37*	5	31*
<i>Ar</i>	100	83*	58*	46*	16	6	37*
	200	74*	53*	38*	6	8	38

*Достоверно по отношению к контролю, $p<0,05$

Таким образом, *Ar*, *P* или *E* в монотерапии даже при применении доз, близких к МПД, давали кратковременный противоопухолевый эффект в отношении первичного опухолевого узла без существенного продления жизни (исключая *P*) и без излечения мышей. Учитывая косвенный признак гематологической токсичности – достоверное уменьшение массы селезенки, можно ожидать повышения токсичности при сочетании всех 3 препаратов. Как следует из вышеизложенного, при комбинированном лечении были дополнительно использованы меньшие разовые дозы *P* – 2,5 мг/кг, *Ar* – 50 и 75 мг/кг, а также исключена относительно высокая разовая доза *E* 15 мг/кг. В данной серии экспериментов препараты вводили одновременно последовательно с целью выявления максимальных биологических эффектов и совместимости препаратов.

Эффективность схем *EP*, *EAr*, *Par*

Количественная оценка синергизма тройной комбинации требует знания не только эффективности монотерапии, но и двойных сочетаний препаратов. Для получения этих данных изучена эффективность комбинаций *EP*, *EAr*, *Par* на п/к *LLC*.

Применение *EP* показало (табл. 2), что эта схема высокоэффективна и проявляет противоопухолевое действие на п/к *LLC* в прямой зависимости от дозы *E*.

Эта зависимость хорошо прослеживалась на 14-е сутки после окончания лечения, когда увеличение дозы *E* в интервале от 5 до 10 и 15 мг/кг давало пропорциональное увеличение ТРО в 1,3–1,5 раза, т.е. до 56; 75 и 85%, соответственно.

Несмотря на то, что даже при максимальной из изученных доз *E* 15 мг/кг излечения мышей добиться не удалось, продолжительность жизни мышей в этой группе достоверно возросла, УПЖ=66% ($p<0,05$).

В легких всех павших от опухоли мышей контрольной и подопытных групп обнаружены метастазы, визуальных различий в степени поражения легких не выявлено.

Переносимость всех видов лечения по состоянию и поведению мышей была удовлетворительной. В результате аутопсии павших от опухоли мышей каких-либо патологических изменений внутренних органов не наблюдали, кроме достоверного уменьшения массы селезенки на 40% при применении *E* в относительно высокой разовой дозе 15 мг/кг. Аналогично пропорциональному увеличению противоопухолевого эффекта схемы *EP* при увеличении дозы *E* от 5 до 15 мг/кг средняя масса селезенки мышей достоверно пропорционально уменьшалась в 2,2–2,7 раз.

Таким образом, результаты изучения чувствительности п/к *LLC* к стандартной схеме *EP* показали, что эта схема не приводит к полному эффекту (излечению) даже при применении близкой к МПД дозы *E*.

Следовательно, модель пригодна для оценки возможности усиления ответа на комбинированное лечение путем добавления 3-го препарата *Ar*. Данные об увеличении риска гематологической токсичности при применении высоких доз *E* послужили основанием для использования *E* в дозе 5 мг/кг при изучении тройной комбинации *EPar*.

Наиболее эффективной из двойных комбинаций оказалась *Par* при разовых дозах *P* 2,5 мг/кг и *Ar* 100 и 150 мг/кг. Сразу после окончания лечения в обеих группах опухоли не определялись, ТРО=100%.

К 22-м суткам у 10–30% животных опухоли также не определялись, а у остальных животных рост опухоли был существенно ингибирован, независимо от дозы *Ar*. Соответственно, общий ингибирующий эффект лечения к этому сроку в группах составил 89–93%

($p<0,05$). Отсутствие опухоли у мышей прослежено до 90 суток, в результате констатируется излечение 10–30% животных. Указанный уровень эффективности *Par* был существенно выше эффекта монотерапии каждым препаратом по всем использованным критериям. В легких всех павших от опухоли мышей контрольной и подопытных групп обнаружены метастазы. В легких мышей без опухоли метастазов не обнаружено.

Состояние мышей во всех случаях сочетания *P* и *Ar* было удовлетворительным. Результаты аутопсии павших от опухоли или умерщвленных на 93 сут наблюдения мышей показали отсутствие видимых изменений внутренних органов, за исключением достоверного уменьшения массы селезенки на 51–57% ($p<0,05$).

Таким образом, результаты лечения *Par* соответствуют известным данным о высокой эффективности данной схемы в эксперименте и клинике. Для тройной комбинации выбраны различные дозовые режимы, поскольку достоверных различий в эффективности и переносимости не выявлено.

Комбинация *EAr* оказалась сходной с комбинацией *EP* как по эффективности, так и по переносимости. При применении *E* в разовой дозе 5 мг/кг и *Ar* в разовой дозе 150 мг/кг на 6–22 сутки после окончания лечения ТРО=89–26%, УПЖ=7%, а излечения не наступило.

Переносимость лечения была удовлетворительной: уменьшение массы селезенки по сравнению с контрольной группой составило 33% (различия недостоверны), видимых патологических изменений внутренних органов при аутопсии не отмечено.

Таким образом, полученные данные позволяют предполагать синергизм *EPar* за счет всех использованных препаратов или их сочетаний. Коррекция доз препаратов в тройной комбинации, обеспечивающая меньший риск гематологической токсичности, целесообразна только для *E*.

Эффективность комбинации *EPar*

Для изучения эффективности *EPar* использовали переносимые охарактеризованные ранее разовые дозы препаратов: *E* 5–10 мг/кг, *P* 2,5–3,0 мг/кг, *Ar* 50–200 мг/кг. Для выявления синергизма *EPar* на п/к *LLC* сравнивали эффективность препаратов в монотерапии и комбинированного лечения при эквитерапевтических дозах.

Результаты (табл. 4) показали потенцирование эффекта комбинированного лечения вплоть до полного излечения мышей, особенно в сравнении с монотерапией, которая приводила только к ТРО или незначительному УПЖ мышей.

Переносимость тройной комбинации была удовлетворительной.

Среди побочных эффектов отмечено только достоверное уменьшение массы селезенки до 67 [57–75] мг ($p<0,05$) в сравнении как с контрольной группой, так и с группами монотерапии.

Это свидетельствует о возможности проявления гематологической токсичности.

Других побочных эффектов не выявлено; видимых патологических изменений внутренних органов при аутопсии не отмечено.

Эффективность *EPar* в сравнении с *EP* была изучена на п/к *LLC*. Показано (табл. 5), что применение *EPar* приводит к полному излечению мышей. Этот эффект получен при высоких терапевтических дозах *Ar* и *P* и относительно невысокой дозе разовой дозы *E* 5 мг/кг.

При дозах *Ar* в комбинации 50–200 мг/кг достигалось излечение 43–100% мышей с метастазирующей опухолью. Эти данные подтверждают одну из важных характеристик *Ar* – широкий диапазон терапевтических доз, а также благоприятный профиль токсичности.

Таблица 2

Чувствительность п/к LLC к схеме EP

ХТ	РД, мг/кг	п мышей	День после окончания ХТ, ТРО%			УПЖ%	m _{ср} селезенки, мг
			6	14	22		
EP	5/2,5	10	88*	6*	42*	2	301 [231÷371]
EP	10/2,5	7	99*	75*	67*	30	134** [91÷177]
EP	15/2,5	8	100*	85*	67*	66**	110** [94÷126]

*Достоверно по отношению к контролю, $p < 0,05$; **достоверно по отношению к контролю и к EP при дозе E 5 мг/кг, $p < 0,05$

Таблица 3

Эффективность PAr и EAr при п/к LLC

Схема ХТ	РД, мг/кг	п мышей	День после окончания лечения, ТРО%			Излечение, %	УПЖ%	↓ m селезенки, %
			6	14	22			
PAr	2,5/100	10	100*	99*	93*	30	23	51*
PAr	2,5/150	10	100*	98*	89*	10	29	57*
EAr	5/150	10	89*	51*	26*	0	7	33

*Достоверно по отношению к контролю, $p < 0,05$

Таблица 4

Сравнительная эффективность EPAR и монотерапии на п/к LLC

Препарат	РД, мг/кг	п мышей	УПЖ%	Излечение, %	↓ m селезенки, %
E	5	10	15	0	9
P	3	10	37*	0	31*
Ar	200	10	6	0	38
EPAr	5/3/200	11	—	100	76**

*Достоверно по отношению к контролю, $p < 0,05$; **достоверно по отношению к контролю и монотерапии, $p < 0,05$

Таблица 5

Сравнительная эффективность EPAR и EP на мышах с п/к LLC

Препарат	РД, мг/кг	п мышей	УПЖ%	Излечение, %	m _{ср} селезенки, мг
E+P	5/2,5	10	2	0	301 [231÷371]
	10/2,5	7	30	0	134 [91÷177]
	15/2,5	8	66*	0	110* [94÷126]
E+P+Ar	2,5/2,5/100	8	—	88	133* [77÷189]
	10/2,5/100	7	—	100	103* [78÷128]
	5/2,5/50	7	—	100	140* [100÷180]
	5/2,5/75	8	—	100	115* [93÷137]
	5/2,5/100	21	—	86	127* [107÷147]
	5/2,5/150	14	52*	43	101* [69÷133]
	5/3/200	19	—	100	77* [59÷95]

Таблица 6

Эффективность EPAR при в/м LLC

Препарат	РД	Сутки терапии	День после окончания ХТ, ТРО%			m _{ср} селезенки, мг
			5-6	12-13	16-17	
E/P/Ar	5/3/150	8; 9; 10	83*	84*	69*	170 [44÷296]
E/P/Ar	5/2,5/150	10; 11; 12	84*	55*	48*	232 [254÷396]

*Достоверно по отношению к контролю, $p < 0,05$

Таблица 7

Переносимость EPAR в зависимости от доз E и Ar

РД			m _{ср} , г, на сутки после окончания лечения				↓ m селезенки, %
E	P	Ar	0	6	14	26	
0	5	00	24,0	18,2	20,7	23,1	61*
5	5	00	23,4	18,0	21,7	24,1	63*
,5	5	00	22,2	17,7	21,5	23,6	50*
5	,5	5	22,7	17,2	20,0	23,1	57*
5	,5	0	22,7	19,5	22,9	23,1	47*

*Достоверно по отношению к контролю, $p < 0,05$

В легких всех павших от опухоли мышей контрольной и подопытных групп обнаружены метастазы, визуальных различий в степени поражения легких не выявлено.

Переносимость всех видов лечения по состоянию и поведению мышей была удовлетворительной. В результате аутопсии павших от опухоли мышей каких-либо патологических изменений внутренних органов не наблюдали, кроме достоверного уменьшения массы селезенки на 40% при применении *E* в относительно высокой разовой дозе 15 мг/кг. Аналогично пропорциональному увеличению противоопухолевого эффекта схемы *EP* при увеличении дозы *E* от 5 до 15 мг/кг средняя масса селезенки мышей достоверно пропорционально уменьшалась в 2,2–2,7 раз.

Таким образом, результаты изучения чувствительности п/к *LLC* к стандартной схеме *EP* показали, что эта схема не приводит к полному эффекту (излечению) даже при применении близкой к МПД дозы *E*. Следовательно, модель пригодна для оценки возможности усиления ответа на комбинированное лечение путем добавления 3-го препарата *Ar*. Данные об увеличении риска гематологической токсичности при применении высоких доз *E* послужили основанием для использования *E* в дозе 5 мг/кг при изучении тройной комбинации *EPAr*.

Наиболее эффективной из двойных комбинаций оказалась *PAr* при разовых дозах *P* 2,5 мг/кг и *Ar* 100 и 150 мг/кг. Сразу после окончания лечения в обеих группах опухоли не определялись, ТРО=100%.

К 22-м суткам у 10–30% животных опухоли также не определялись, а у остальных животных рост опухоли был существенно ингибирован, независимо от дозы *Ar*. Соответственно, общий ингибирующий эффект лечения к этому сроку в группах уже составил 89–93% ($p < 0,05\%$).

Отсутствие опухоли у мышей прослежено до 90 суток, в результате констатируется излечение 10–30% животных. Указанный уровень эффективности *PAr* был существенно выше эффекта монотерапии каждым препаратом по всем использованным критериям. В легких всех павших от опухоли мышей контрольной и подопытных групп обнаружены метастазы. В легких мышей без опухоли метастазов не обнаружено.

Состояние мышей во всех случаях сочетания *P* и *Ar* было удовлетворительным. Результаты аутопсии павших от опухоли или умерщвленных на 93-и сут наблюдения мышей показали отсутствие видимых изменений внутренних органов, за исключением достоверного уменьшения массы селезенки на 51–57% ($p < 0,05$).

Таким образом, результаты лечения *PAr* соответствуют известным данным о высокой эффективности данной схемы в эксперименте и клинике. Для тройной комбинации выбраны различные дозовые режимы, поскольку достоверных различий в эффективности и переносимости не выявлено.

Комбинация *EAr* оказалась сходной с комбинацией *EP* как по эффективности, так и по переносимости. При применении *E* в разовой дозе 5 мг/кг и *Ar* в разовой дозе 150 мг/кг на 6-е – 22-е сутки после окончания лечения ТРО=89–26%, УПЖ=7%, а излечения не наступило.

Переносимость лечения была удовлетворительной: уменьшение массы селезенки по сравнению с контрольной группой составило 33% (различия недостоверны), видимых патологических изменений внутренних органов при аутопсии не отмечено.

Таким образом, полученные данные позволяют предполагать синергизм *EPAr* за счет всех использованных препаратов или их сочетаний. Коррекция доз препаратов в тройной комбинации, обеспечивающая меньший риск гематологической токсичности, целесообразна только для *E*.

Эффективность комбинации *EPAr*

Для изучения эффективности *EPAr* использовали переносимые охарактеризованные ранее разовые дозы препаратов: *E* 5–10 мг/кг, *P* 2,5–3,0 мг/кг, *Ar* 50–200 мг/кг. Для выявления синергизма *EPAr* на п/к *LLC* сравнивали эффективность препаратов в монотерапии и комбинированного лечения при эквитерапевтических дозах. Результаты (табл. 4) показали потенцирование эффекта комбинированного лечения вплоть до полного излечения мышей, особенно в сравнении с монотерапией, которая приводила только к ТРО или незначительному УПЖ мышей.

Переносимость тройной комбинации была удовлетворительной. Среди побочных эффектов отмечено только достоверное уменьшение массы селезенки до 67 [57÷75] мг ($p < 0,05$) в сравнении как с контрольной группой, так и с группами монотерапии. Это свидетельствует о возможности проявления гематологической токсичности. Других побочных эффектов не выявлено; видимых патологических изменений внутренних органов при аутопсии не отмечено.

Эффективность *EPAr* в сравнении с *EP* была изучена на п/к *LLC*. Показано (табл. 5), что применение *EPAr* приводит к полному излечению мышей. Этот эффект получен при высоких терапевтических дозах *Ar* и *P* и относительно невысокой разовой дозе *E* 5 мг/кг. При дозах *Ar* в комбинации от 50 до 200 мг/кг достигалось излечение 43–100% мышей с метастазирующей опухолью. Эти данные подтверждают одну из важных характеристик *Ar* — широкий диапазон терапевтических доз, а также благоприятный профиль токсичности. Эти свойства определяют эффективность и относительно низкую токсичность комбинаций *Ar* с комплексными соединениями платины, а также другими цитостатиками [3; 4; 5]. Большая терапевтическая широта, скорее всего, связана с более мягким действием *Ar* на кроветворение и иммунную систему мышей по сравнению с другими производными нитрозомочевины.

Переносимость всех видов воздействия удовлетворительная. Ни в одной группе не было отмечено гибели мышей от токсичности или выраженных побочных явлений после проведенного лечения.

Результаты комбинированной терапии по схеме *EPAr* развившейся в/м *LLC* представлены в табл. 6. На 5-е – 13-е сутки после окончания лечения наблюдалось достоверное ТРО 84–55% ($p < 0,05$), сохранявшееся на протяжении 20 дней.

Однако значимого УПЖ при применении препаратов в указанных дозах не наблюдалось.

Переносимость *EPAr* сопоставима с переносимостью двойных комбинаций или монотерапии: гибели животных от токсичности не отмечалось, однако средняя масса селезенки была меньше, чем при двойных комбинациях.

Уменьшение массы тела через 3–7 дней после окончания лечения составило не более 25%.

Восстановление показателя наблюдали к 14–26 суткам после окончания лечения (табл. 7).

Ухудшение переносимости *EPAr* связано с дозовым режимом препаратов.

Обсуждение результатов исследования

В работе изучена возможность повышения эффективности стандартной ПХТ по схеме *EP* [9; 10] с включением *Ar* на модели рака легкого *LLC*. В результате проведенного исследования установлена высокая эффективность комбинации *EPAr* при лечении опухоли на ранней и поздней стадиях развития.

В реализации противоопухолевого эффекта EPAR основную роль играет сочетание PAr.

Переносимость тройной комбинации сравнима с таковой для монотерапии или двойных комбинаций препаратов. Основным ожидаемым побочным эффектом является гематологическая токсичность, которая может быть снижена путем уменьшения дозы Ar или E без потери эффективности.

Эффективность EPAR проявляется излечением мышей с LLC вплоть до полного излечения, в отличие от EP, применение, которой к излечению не приводит [12].

Полученные данные позволяют надеяться, что комбинация EPAR может найти клиническое применение при лечении МРЛ.

Выводы

1. Трехдневный курс лечения по схеме этопозид+цисплатин+араноза приводит к излечению мышей с метастазирующей в легкие эпидермальной карциномой легкого Льюис.
2. Тройная комбинация EPAR по сравнению с двойными комбинациями этопозид+цисплатин, этопозид+араноза и цисплатин+араноза достоверно более эффективна по критерию выживаемости.
3. Переносимость EPAR сопоставима с переносимостью двойных комбинаций PAr, EP и EAr.
4. Комбинация EPAR перспективна для клинического изучения при МРЛ.

Литература

1. Бухарова И.К., Ревазова Е.С., Мороз Л.В. Чувствительность к аранозе некоторых гетеротрансплантатов опухолей человека у бестимусных мышей и крыс // Химиотерапия опухолей в СССР. – 1986 г. – вып. 45. – С. 164–167.
2. Кузьминов А.Е. Разработка новых режимов комбинированной химиотерапии диссеминированного мелкоклеточного рака лёгкого. Автореф. канд. дисс. – М. – 2007 г. – 28 с.
3. Манзюк Л.В., Бородин А.Г., Артамонова Е.В. и др. Опыт применения лекарственных комбинаций на основе аранозы в лечении диссеминированной меланомы кожи // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. – 2000 г. – № 2. – С. 27–30.
4. Муханов В.И., Платонова Г.Н., Перетолчина Н.М. и др. Новый противоопухолевый препарат араноза // Химиотерапия опухолей в СССР. – 1980 г. – вып. 32. – С. 133–139.
5. Перетолчина Н.М., Ключкова Т.И., Михайлова Л.М., Бородин А.Г. Араноза – новый противоопухолевый препарат. – М.: РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. – 2000 г. – 36 с.
6. Семин О.В. Новые производные нитрозомочевина в лечении мелкоклеточного рака легкого. Автореф. канд. дисс. – М. – 2003 г. – 27 с.
7. Трещалина Е.М., Жукова О.С., Герасимова Г.К. и др. Методические указания по изучению противоопухолевой активности фармакологических веществ. – В кн.: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ // Под общей ред. Р.У. Хабриева. – 2 изд. – М. – Медицина. – 2005 г. – С. 637–651.
8. Chabner B.A., Longo D.L. Cancer Chemotherapy and Biotherapy: Principles and Practice. – 3rd ed., Philadelphia: Lippincott-Raven, 2001. – P. 678–699.
9. Eckardt J.R., von Pawel J., Papai Z. et al. Open-label, multicenter, randomized, phase III study comparing oral topotecan/cisplatin versus etoposide/cisplatin as treatment for chemotherapy-naïve patients with extensive-disease small-cell lung cancer // J. Clin. Oncol. – 2006. – Vol. 24. – P. 2044–2051.
10. Hanna N., Bunn P.A., Langer C. et al. Randomized phase III trial comparing irinotecan/cisplatin with etoposide/cisplatin in patients with previously untreated extensive-stage disease small cell lung cancer // J. Clin. Oncol. – 2006. – V. 24. – N. 13. – P. 2038–2043.
11. Ohe Y., Negoro S., Matsui K. et al. Phase I-II study of amrubicin and cisplatin in previously untreated patients with extensive-stage small-cell lung cancer // Ann. Oncol. – 2005. – Vol. 16. – P. 430–436.
12. Zupi G., Greco C., Sacchi A., Calabresi F. Etoposide prior to cis-Diamminedichloroplatinum in combination chemotherapy: *in vitro* and *in vivo* studies // Eur. J. Cancer. Clin. Oncol. – 1985. – Vol. 21. – P. 1501–1506.

Поступила 22.12.2008.

УДК: 616-006.04-031.14

*Е.Л. Секержинская, А.Ф. Лазарев, В.Д. Петрова***ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ****ПЕРВИЧНО-МНОЖЕСТВЕННЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ**

Алтайский филиал ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН; ГУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер»

Резюме

В работе представлен обзор отечественной и зарубежной литературы. Проанализировали факторы, влияющие на рост первично-множественных злокачественных новообразований. Рассмотрены как определяющие факторы: возраст; пол; предшествующее лечение; ионизирующее излучение; наследственность; гормонально-метаболические нарушения; иммунодефицитные состояния; эколого-гигиеническая ситуация; длительность наблюдения за больными; вирусы. Приведены результаты ряда когортных и эпидемиологических исследований возрастных и гендерных особенностей и частоты развития полинеоплазий. Установлено, что в случае неустранения факторов, приведших к развитию первой злокачественной опухоли, сохраняется высокий риск возникновения последующих. Обоснована необходимость динамического наблюдения за больными после лечения первой опухоли.

Ключевые слова: ПМЗН, метакронные/синхронные опухоли, факторы риска, особенности наблюдения.

*A.F. Lazarev, E.L. Sekerzhinskaya, V.D. Petrova***RISK FACTORS FOR MULTIPLE PRIMARY CANCERS**

Altai Division Of Russian N.N. Blokhin CRC RAMS; Altai Oncological Centre, Barnaul

Abstract

This work provides a review of Russian and foreign scientific publications. The phactors having an influence on multiple primary tumors were examined. The influence of sex, previous treatment, ionizing radiation, heredity, hormonal and metabolic disorders, immunodeficiency status, environment, duration of cancer survivors observation, viruses are analyzed. The review also discuss the results of some cohort and epidemiological studies of multiple primary cancer incidence, age and gender peculiarities. Recent observations indicate that if the exposure to risk factors did not cease, the high risk of the second cancer development still exists. The work provides an explanation of the necessity of dynamic observation of the patients after the first cure.

Key words: multiple primary tumors, metachronous/synchronous cancers, risk factors, observation of cancer survivors.

Введение

В последнее десятилетие проблема полинеоплазий приобрела особое значение в связи с наблюдаемым повышением частоты вторых и последующих опухолей без тенденции к снижению или стабилизации. Первично-множественные злокачественные новообразования представляют собой один из вариантов развития злокачественных опухолей [19–21]. Поэтому прогресс в понимании причин и механизмов развития солитарных злокачественных опухолей, их диагностика и лечения вызывал соответствующую эволюцию взглядов на проблему как синхронных, так и метакронных полинеоплазий [29].

Многочисленные наблюдения свидетельствуют о том, что одной из важнейших причин возникновения ПМЗН является действие экзогенных химических и физических канцерогенов. Помимо этого установлена роль и других факторов: увеличение средней продолжительности жизни онкологических больных, возрастание интенсивности канцерогенных воздействий, урбанизация, накопление наследственной отягощенности, улучшение диагностики и лечения онкологических больных [28; 33; 86]. В результате действия канцерогенного фактора возникает множество поврежденных клеток, что создает предпосылки для развития множественных очагов злокачественного роста. По данным разных авторов в материале, полученном во время проведения радикальных операций, мультицентричность рака молочной железы отмечается в 49,0% случаев [44], рака предстательной железы – в 68,0% [64], рака щитовидной железы – в 70,0% [71], рака поджелудочной железы у пациентов с синдромом множественной эндокринной неоплазией 1 типа – в 89,0% [78].

Наиболее часто полинеоплазии развиваются у пациентов с наследственно детерминированным де-

фектом ферментов репарации ДНК, системными заболеваниями (иммунопатологиями, выраженными гормонально-метаболическими нарушениями), лучевой болезнью, глубокими нарушениями системы детоксикации и другими. Такой подход согласуется с мнением многих авторов.

Полинеоплазия – это заболевание организма в целом, что и обосновывает необходимость диспансеризации онкологических больных после излечения первой опухоли с целью устранения патологических изменений, индуцированных химиолучевой терапией [33]. Развитие вторых опухолей зависит от множества факторов: пола и расы пациента, возраста, в котором у него была излечена первая опухоль, ее локализации, предшествующего специального лечения, продолжительности наблюдения за больным, наследственной отягощенности и другими [28; 48; 74; 75].

Возраст

Возраст человека – решающий фактор, который определяет вероятность его заболевания злокачественной опухолью.

Поэтому демографическое старение населения приведет к тому, что в обозримом будущем следует ожидать увеличения заболеваемости злокачественными новообразованиями и смертности от них [9; 10; 42; 45; 46; 74; 80].

Отмечается рост первично-множественных злокачественных новообразований у лиц пожилого возраста: по данным разных авторов удельный вес полинеоплазий в общей структуре злокачественных опухолей колеблется 1,3–11,6%, увеличиваясь пропорционально возрасту [45; 46; 55; 56].

Так, Д.М. Абдурасулов и К.Е. Никишин (1968) отмечают, что из больных, умерших в возрасте 70–74 лет, ПМЗН обнаружены у 13,5 %; в возрасте 80–90 лет – у 14,8%; старше 90 лет – у 22,0 % пациентов [1]. Е.Н. Имянитов и К.П. Хансон (2004) считают, что достижения молекулярной онкологии оказали существенное влияние на дискуссии о взаимоотношениях возраста и рака [13]. Ведущее место в канцерогенезе отводится возрастному накоплению соматических мутаций. Исследуются и другие факторы декомпенсации стареющего организма: такие как нестабильность теломер [41; 43], иммунодепрессия и гормонально-метаболические нарушения.

Преобладание среди больных лиц пожилого возраста, возможно, является следствием:

- 1) длительного отрезка времени, необходимого для накопления соответствующей дозы экзогенного канцерогена;
- 2) молекулярных нарушений в тканях (при старении увеличивается чувствительность этих тканей к действию канцерогенов);
- 3) возрастных изменений пролиферативной активности (так как иммуностарение способствует возникновению и росту злокачественной опухоли) [2].

Вероятность обнаружения второй опухоли увеличивается, если первая была выявлена у пациента в относительно раннем возрасте [48; 60; 61; 75].

Пол

Сведения относительно пола довольно противоречивы. По данным одних исследователей среди этого контингента больных преобладают мужчины. По данным А.Г. Агеева (2005) у больных ПМЗН, одной из которых является рак легкого, мужчин было 75,1%; женщин – 24,9% [36].

Им противоречат сведения других авторов, выявивших или преимущественное поражение женщин или одинаковую встречаемость у лиц обоего пола. Злокачественные опухоли репродуктивной системы являются наиболее частыми в структуре онкологической заболеваемости женщин, и их суммарная доля превышает 35,0% [5; 18; 52]. В.М. Мерабишвили и соавт. (1987) считают, что ПМЗН чаще наблюдаются у женщин, причем на долю опухолей репродуктивной системы и толстой кишки приходится 80,1 %.

Но среди большого количества разнообразных сочетаний ПМЗН достоверно установлено, что у мужчин чаще встречаются функциональнозависимые опухоли, а у женщин – гормональнозависимые [4; 79].

Предшествующее лечение

Одно из самых тяжелых последствий лечения злокачественных новообразований – развитие второй злокачественной опухоли, риск которого, по данным некоторых авторов, превышает таковой в общей популяции в 10–20 раз [23]. В возникновении полинеоплазий особое значение, по-видимому, имеют индуцированные мутации, возникшие в результате лечения первой опухоли. Значительное влияние на процесс канцерогенеза, вызванного алкилирующими агентами, оказывает фермент Об-алкил-деоксигуанин-ДНК-алкилтрансфераза, который определяет способность ДНК к репарации и репликации. Этот фермент влияет на риск развития вторых опухолей у больных, получавших химиотерапию алкилирующими препаратами [9].

В.Ю. Сельчук и соавт. (1998) также отмечали возможную роль ятрогенных факторов, связанных с лечением первой опухоли, как этиологического момента в развитии второй и последующих опухолей [28]. В на-

стоящее время не вызывает сомнений тот факт, что канцерогенами являются многие противоопухолевые препараты [11]. Возможно, канцерогенный эффект реализуется за счет иммунодепрессивного действия цитостатиков. К химиоиндуцированным опухолям относят рак мочевого пузыря и нелимфобластные лейкозы. Достоверно доказано увеличение частоты возникновения рака мочевого пузыря у больных, пролеченных циклофосфамидом, в 9 раз. Известно, что в той или иной степени лейкозогенным действием обладают следующие препараты: алкилирующие агенты, препараты нитрозомочевина, ингибиторы топоизомеразы, препараты платины. Изучается влияние генетических факторов на реализацию канцерогенного потенциала химиотерапевтических препаратов. Так, от активности некоторых ферментов, участвующих в метаболизме цитостатических агентов, зависит эффективность лечения вообще и развитие побочных эффектов в частности [63]. Показано, что у групп пациентов со сниженной активностью тиопуринметилтрансферазы – фермента, участвующего в клеточных превращениях пуриновых оснований, – возрастает риск развития вторичных опухолей мозга при одновременном назначении 6-меркаптопурина и проведении лучевой терапии, и вторичных нелимфобластных лейкозов при одновременном назначении 6-меркаптопурина и этопозида. [23]. Однако не во всех случаях химиотерапия с применением алкилирующих препаратов вызывает развитие лейкозов как вторичных опухолей. Риск blastomagenного эффекта в наибольшей степени зависит от суммарной дозы препарата, которая коррелирует с увеличением длительности его применения [50; 85]. В связи с этим вызывают интерес исследования, проведенные F. Vathaire et al. (1989), которые наблюдали за 634 больными в течение 3-5 лет после окончания химиотерапии. У 5,0 % (32 человека) было выявлено 35 новых злокачественных опухолей. Заболеваемость повышалась с возрастом в среднем в 3,4 раза, независимо от продолжительности химиотерапии.

Таким образом, лечение с применением даже одного химиопрепарата способно повысить риск развития вторичной опухоли. Использование комбинации химиотерапевтических агентов и тем более добавление к ним терапии облучения существенно увеличивает этот риск.

Ионизирующее излучение

Согласно общепринятой концепции, впервые сформулированной J. Higginson и C.S. Muir (1973), не менее 85,0 % случаев злокачественных новообразований связаны с влиянием внешних факторов, из них 4,0–5,0 % приходится на долю ионизирующей радиации [9; 11]. Ионизирующие излучения, независимо от их вида и способа воздействия – внешнего или внутреннего, тотального или локального, фракционированного, однократного или хронического, обладают канцерогенным эффектом, повреждая генетический аппарат клетки [11]. Канцерогенность ионизирующей радиации неоднократно была показана в эпидемиологических исследованиях, проведенных среди различных групп населения, подвергавшихся облучению по медицинским показаниям на рабочем месте, включая ядерные производства, при испытании ядерного оружия, вследствие аварии на АЭС и других ядерных установках [9].

Ряд авторов отмечают повышение частоты возникновения второй опухоли у пациентов с различными злокачественными новообразованиями, подвергавшимися облучению в высоких дозах [16]. При этом риск развития опухоли возрастает с увеличением площади облучения и зависит от возраста пациента. Риск развития опухоли тем выше, чем меньше возраст облученного.

Наиболее широко изучена модель возникновения вторичных злокачественных опухолей после лучевой терапии в детстве, так как вплоть до конца 1950-х гг. широко использовалось лучевое лечение по поводу незлокачественных заболеваний: тимомегалии, коклюша, хронического тонзиллита, лимфоденитов, стригущего лишая [23]. В этой группе пациентов частота лейкозов была в 5 раз выше, чем в контрольной.

Также отмечено возрастание частоты рака щитовидной железы [16; 26], опухолей костей [35] и ретинобластом. Особенно часто метакхронные новообразования развивались у детей, пролеченных с применением высоких доз облучения (более 25 Гр) в сочетании с алкилирующими агентами, применявшимися в качестве модификаторов [23; 75]. М. Tucker et al. (1988) длительно наблюдали 1507 пациентов, страдавших болезнью Ходжкина, получивших лучевую терапию в медицинском центре Стэнфордского университета.

В течение последующих 15 лет у 17,6 % из них были диагностированы вторые злокачественные опухоли [85]. Интересны итоги международного исследования по изучению риска возникновения вторых опухолей у больных раком шейки матки после лучевой терапии [50]. В исследование была включена 181 000 пациенток, из них 69 000 женщин, получивших радикальную лучевую терапию. Впоследствии у 3334, что составило 4,8 %, было диагностировано второе злокачественное новообразование. Вместе с тем, В.Ю. Сельчук (1995) считает, что в современных условиях точно определить риск развития второй опухоли после лучевого лечения в расчете на 1 сГр облучения не представляется возможным, хотя в последнее время появляется все больше публикаций отдельных наблюдений «радиационно-индуцированного» рака, развившегося в той же ткани, что и излеченная первая опухоль [28].

Наследственность

В результате экспериментальных и эпидемиологических исследований доказано, что подавляющее большинство опухолей человека не являются наследственными, за исключением редких клинических синдромов [10]. Однако имеется определенная связь между наследственностью и возникновением ПМЗН [49]. С точки зрения генетики риск возникновения злокачественных новообразований определяется как интенсивностью воздействия неблагоприятных факторов внешней среды, так и степенью наследственной предрасположенности к развитию опухоли [59]. В целом молекулярно-генетическая картина повреждений в ПМЗН не имеет существенных особенностей: дефектам подвергаются те же самые локусы, что и в «обычных» новообразованиях [12; 13]. Наиболее наглядным примером возникновения ПМЗН у больных с генетическим дефектом ферментативной системы репарации ДНК служит пигментная ксеродерма, которая является облигатным предраком злокачественного поражения кожи.

Риск развития вторых и последующих опухолей у пациентов с уже выявленным раком примерно в 1,3 раза выше, чем у лиц, у которых ранее не было новообразования [51; 76; 83]. По данным группы по изучению отдаленных последствий лечения (США) кумулятивный риск развития второго злокачественного заболевания у пациентов с отягощенным семейным онкологическим анамнезом более чем в 2 раза выше, чем у пациентов, среди родственников которых не отмечалось случаев заболевания раком (1,2% и 3,1% соответственно). Изучение семей пациентов с ПМЗН позволило установить, что 45,2% из них имеют родственников 1 степени родства, больных какой-либо злокачественной опухолью. Накопление аналогичных ПМЗН среди родственников на-

блюдалось в 2,0% случаев, что во много раз превышало частоту в популяции [14]. S. Shah и D.G. Evans (1997) показали, что определенные формы рака молочной железы, яичников и толстой кишки обусловлены генетически и связаны с доминантно-наследственным повреждением гена, чаще всего у молодых пациенток и с первично-множественными опухолями. Я.В. Бохман (1989) считал, что генетическая предрасположенность к развитию гормонально-зависимых опухолей означает наследование по рецессивному типу конституциональных и эндокринно-обменных особенностей, таких, как нарушение овуляции и метаболизма стероидных гормонов, ожирение, сахарный диабет [3].

Молекулярная генетика множественных опухолей достигла прогресса в понимании механизмов возникновения наследственных опухолевых синдромов, ассоциированных с возникновением множественных неоплазм [13].

Основные клинико-генетические характеристики наследственных опухолевых синдромов:

- 1) доминантный тип наследования;
- 2) исключительно высокая встречаемость онкологической патологии среди кровных родственников больного;
- 3) ранний возраст появления неоплазий;
- 4) множественность опухолей (больше шансов, что блокировка супрессорного гена произойдет в 2 независимых клеточных клонах).

На модели ретинобластомы в 1980-х гг. был установлен первый локус наследования для семейной опухоли (хромосома 13q), а также идентифицирован первый ген наследственного рака – *RB-1*. Причиной синдрома Ли-Фраумени является зародышевая мутация в супрессорном гене *p53* (хромосома 17p). В 1990-х гг. идентифицированы гены наследственного рака молочной железы *BRCA-1* и *BRCA-2*.

Для носительниц мутаций в *BRCA-1* (хромосома 17q) в большей степени характерны ранний возраст возникновения заболеваний (до 40 лет) и сочетание с онкологической патологией в яичниках [54]. Мутации в *BRCA-2* (хромосома 13q) реализуются в раковый фенотип несколько позже; они опасны не только для женщин, но и для мужчин, так как вызывают рак грудных желез и простаты. Непролиферативный рак толстой кишки может провоцироваться дефектами в нескольких генах: *MSH-2* (хромосома 2p), *MLH-1* (хромосома p), *PMS-2* (хромосома 7p) [81]. Полномка этих генов приводит к «мутационному фенотипу», т.е. накоплению различных генетических повреждений. Подобный процесс увеличивает вероятность появления злокачественных клеток и проявляется клинически в возникновении множественных карцином толстой кишки [51; 53]. Синдром множественных эндокринных неоплазий II типа – единственный наследственный рак, для которого причиной является мутация не в супрессорном гене, а в классическом доминантном онкогене [12; 13].

Гормонально-метаболические нарушения и иммунодефицитные состояния

Считается доказанной взаимосвязь между особенностями метаболизма женских половых гормонов и риском возникновения гормонозависимых опухолей молочной железы, эндометрия и яичников [69]. Полиморфные варианты генов, продукты которых участвуют в синтезе андрогенов и эстрогенов, могут несколько увеличивать риск новообразований репродуктивной системы [65; 69]. К ним относят гены группы цитохрома p450 (*CYP11A1*, *CYP17*, *CYP19*). Кодирова определенные ферменты (например, ароматазу), они могут ограничивать скорость образования эстрогенов.

Предполагается, что полиморфизм этой группы генов может влиять на степень риска целого ряда злокачественных новообразований. В механизме развития полинеоплазий с поражением рака тела матки и толстой кишки преобладают эндокринные нарушения. После излечения рака эндометрия общий эндокринный фон организма существенно не меняется, следовательно, следующей мишенью может стать эпителий толстой кишки [30]. Исследования Я.В. Бохмана (1987) показали, что гормональнозависимый вариант рака тела матки является первой опухолью в 95 раз чаще, чем рак толстой кишки [5]. Это косвенно подтверждается наличием рецепторов эстрогенов в этих опухолях. Данные о наиболее высокой вероятности развития рака в тканях-мишенях, содержащих большое количество рецепторов к половым гормонам, подтверждаются результатами статистических исследований, проведенных В.М. Мерабишвили (1987). Опасность развития рака толстой кишки у пациентов, излеченных от рака тела матки, в 179 раз выше, чем в популяции женщин старше 40 лет.

В канцерогенезе полинеоплазий выделяют **синдром канкрофилии**, включающий гормонально-метаболические сдвиги и снижение активности иммунитета, который повышает вероятность опухолевой трансформации клеток под влиянием экзогенных факторов. В эксперименте показано, что промоторами злокачественной трансформации клеток могут выступать факторы роста, гормоны [62], химические соединения [31; 40; 70]. Некоторые авторы указывают на связь развития ПМЗН с наследственными или приобретенными иммунодефицитными состояниями. Так, по данным P.G. Rose и A.E. Fraire (1993), T.F. Schulz et al. (1996) ПМЗН отмечены у пациентов с ВИЧ-инфекцией [82; 84]. K. Ono et al. (1989), Immamura N. (1993) отмечают ПМЗН у больных острым Т-клеточным лейкозом, состояние которых характеризуется глубоким угнетением Т-клеточного звена иммунитета [68; 78]. P. Hall (1995) выдвинул гипотезу, что снижение активности иммунной системы под влиянием интенсивного ультрафиолетового облучения также провоцирует развитие новообразований кожи у больных НХЛ [66]. S. Watanabe (1990), и объясняет возникновение новых опухолей следствием терапии иммунодепрессантами [86]. Установлена более глубокая степень иммунодепрессии при ПМЗН по сравнению с одиночными опухолями соответствующих локализаций. Обнаружено также более выраженное угнетение количественных и функциональных показателей иммунной системы при синхронных опухолях по сравнению с метастатическими независимо от локализации опухоли [22].

Результаты многочисленных исследований свидетельствуют, что у всех онкологических больных наблюдаются выраженные нарушения гомеостаза, вызванные раковым токсикозом [77].

По данным Р.И. Якубовской и соавт. (1996) при оценке состояния окислительно-антиокислительного равновесия у таких пациентов было выявлено, что у 87,0% из них окислительно-антиокислительный баланс значительно сдвинут в сторону окисления [39]. Хирургическое лечение и химиолучевая терапия у 90,0% больных приводят к еще большему усилению перекисного окисления липидов и снижению уровня эндогенных антиоксидантов, что оказывает влияние на функционирование всех систем организма. Основную роль в повреждении генетического аппарата клетки отводят свободнорадикальному окислению [72].

Таким образом, токсикоз и осложнения противоопухолевого лечения могут индуцировать переход иницированной клетки в трансформированное состояние, способствовать ускорению роста и метастазирования первичной опухоли и создавать условия для возникновения потенциальных очагов малигнизации. В.И. Чиссов

и А.Х. Трахтенберг (2000) считают, что возможно именно этот фактор является одним из основных, обуславливающих более высокую частоту развития вторых злокачественных новообразований у онкологических больных по сравнению с таковой в популяции [33].

Эколого-гигиеническая ситуация

При исследовании территориальной распространенности ПМЗН выявляется неоднородность структуры ареала заболевания и определенная закономерная устойчивость ее в некоторых городах и районах [24; 25]. К ним относятся города с высокоразвитой промышленностью, особенно нефтехимической и металлургической. Структура первых и вторых опухолей в крупном промышленном центре с развитой нефтехимией отличается в сторону учащения метастатических новообразований [32]. Основными источниками загрязнения атмосферного воздуха, почв, водных бассейнов являются предприятия металлургической, коксохимической, нефтеперерабатывающей, химической, целлюлозно-бумажной промышленности, транспорт.

Поступление канцерогенных веществ в организм происходит ингаляционным путем, а также с пищей и водой [11; 27]. А.М. Ханов (2005) при изучении заболеваемости ПМЗН по данным канцер-регистра в республике Башкортостан среди городского и сельского населения установил, что ПМЗН встречаются чаще среди городских жителей. Показатель заболеваемости ПМО в городах Башкортостана составил 4,2 на 100 000 населения, а в сельской местности – 3,3‰, что автор объясняет, с одной стороны, экологическим прессингом, а с другой – недостаточной выявляемостью ПМЗН в сельской местности. Различной была и структура метастатических опухолей: в городской зоне преобладали новообразования мочевыделительной и женской репродуктивной систем, а на селе – опухоли кожи и губы. В более поздних работах этим же автором приводятся данные об увеличении в крупных промышленных центрах Башкортостана в 1,5 раза доли метастатических ПМЗН органов дыхания, в 3,5 раза – органов мочевого выделения [6; 32].

Нами был выполнен ряд исследований по изучению связи заболеваемости солитарными злокачественными опухолями щитовидной железы, кожи, легкого, толстой кишки, лимфом, печени, костей и почвенно-климатическими условиями, хозяйственной деятельности, качеством поверхностных и подземных вод, содержанием микроэлементов и радионуклидов в почве, воде и продукции растениеводства в Алтайском крае [16; 17; 27; 34–38].

Установлена взаимосвязь уровня заболеваемости: рак щитовидной железы – от фактора ионизирующего излучения, содержания ^{137}Cs в почве, рельефа местности, количества осадков, микроэлементного состава вод [16];

рак кожи – от ультрафиолетового облучения, климата, рельефа местности, минерализации вод, содержания фосфора в почве, фактора ионизирующего излучения;

рак легкого – от загрязнения атмосферного воздуха, микроэлементного состава почвы и воды, загрязнения радионуклидами почвы, высокой природной радиоактивности;

рак толстой кишки – от повышенного содержания в поверхностных водах минерального осадка, свинца и цинка; в подземных водах – свинца, железа; в почве – тяжелых металлов и радионуклидов, никеля, кадмия, свинца, хрома [38];

злокачественные лимфомы – от повышенного уровня минерального остатка в поверхностных водах; содержания кадмия, свинца, фтора, хрома и радионуклидов в почве [15];

рак печени – от проживания в зоне с развитыми тяжелой и химической промышленностью, сельским хозяйством (включая риск глистных инвазий); влажных степей, содержанием никеля и радионуклидов в почвах, природной радиоактивности, фактором ионизирующего излучения; опухоли костей – от проживания в зоне высокого техногенеза, засушливого климата, повышенного содержания минерального остатка и свинца в воде, природной радиоактивностью, загрязнением почвы радионуклидами, фактором ионизирующего излучения [35].

Вместе с тем убедительно доказано, что факторы, обуславливающие развитие первой опухоли, приводят к развитию второй и последующих в тех случаях, когда причины опухолевой трансформации клеток и иммунодепрессии не устранены [7; 8; 33; 73].

Эпидемиологических исследований по изучению канцерогенных факторов внешней среды на возникновение полинеоплазий немного [15; 27; 36; 38].

Длительность наблюдения

Многие авторы указывают на необходимость длительного наблюдения за пациентами, у которых противоопухолевое лечение оказалось эффективным.

По данным I. Nybaset (1989) у больных раком гортани вторые опухоли в течение первых 3 лет были выявлены у 5,5% пациентов, через 5 лет – у 10,0%, через 10 лет – почти у 13,0% [67].

А.Б. Байков (1982) считает, что 80,0% первично-множественных опухолей органов головы и шеи возникают метакронно и интервал между их возникновением колеблется от 6 мес. до 32 лет.

Литература

1. Абдурасулов Д.М. Первично-множественные опухоли/Абдурасулов Д.М., Никишин К.Е.//Ташкент, 1968. – 649 с.
2. Анисимов В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. – СПб.: Наука, 2003. – 468 с.
3. Бохман Я.В. Руководство по онкогинекологии/Первично-множественные злокачественные опухоли. – СПб., 1989.
4. Бохман Я.В. Новые подходы к лечению гинекологического рака/Первично-множественные опухоли гениталий, молочной железы и толстой кишки // Бохман Я.В., Ливший МА. Винокуров В.Л. и др. – СПб.: Гиппократ, 1993.
5. Бохман Я.В. Патогенетические аспекты первично-множественных опухолей толстой кишки, тела матки и молочной железы / Первично-множественные злокачественные опухоли // Бохман Я.В., Рыбин Е.П. – Л., 1987.
6. Ганцев Ш.Х. Распространенность и риск возникновения первично-множественных опухолей по материалам популяционного канцер-регистра / Ганцев Ш.Х., Мерабишвили В.М., Куликов Е.И. и соавт. // Российский онкологический журнал, 1998. – № 5. – С. 4-7.
7. Дильман В.М. Эндокринологическая онкология. – Л.: Медицина, 1983.
8. Дильман В.М. Общая онкология/Дильман В.М., Цырлина Е.В., Берштейн Л.М. и др.//Л.: Медицина, 1989. – С. 119-42.
9. Заридзе Д.Г. Эпидемиология, механизмы канцерогенеза и профилактика рака // Материалы 3 съезда онкологов и радиологов СНГ: Минск, 25-28 мая, 2004г. В 2 ч. Ч.1.-Мн.: ОДО «Тонпик», 2004. – С. 31-6.
10. Заридзе Д.Г. Эпидемиология, механизмы канцерогенеза и профилактика рака // Проблемы клинической медицины. – 2005. – №2. – С.10-6.
11. Избранные лекции по клинической онкологии. Под ред. акад. РАМН В.И. Чиссова, проф. С.Л. Дарьяловой. – М.: 2000. – 736 с.
12. Имянитов Е.Н. Молекулярные аспекты патогенеза первично-множественных опухолей / Имянитов Е.Н., Хансон К.П. //Российский онкологический журнал. – 1998. – № 5. – С.47-51.
13. Имянитов Е.Н. Молекулярная онкология: клинические аспекты/Имянитов Е.Н., Хансон К.П.//СПб. – 2007. – С. 211.
14. Казубская Т.П. Клинико-генетический анализ первично-множественных злокачественных новообразований / Казубская Т.П., Сельчук В.Ю., Белев Н.Ф. и др. //Современные технологии в онкологии: материалы VI Всероссийского съезда онкологов. Том 2. –М.,2005. – С. 327-8.
15. Лазарев А.Ф. Злокачественные лимфомы в Алтайском крае/А.Ф.Лазарев, Я.Н.Шойхет, Е.И. Россоха// Барнаул, 2005. – С.75-9.
16. Лазарев А.Ф. Рак щитовидной железы в Алтайском крае./А.Ф.Лазарев, Я.Н.Шойхет и др.//Барнаул, 2003. – 206 с.
17. Лазарев А.Ф. Экологическая эпидемиология онкологических заболеваний./А.Ф.Лазарев// Материалы Российской науч.-практ. конф. онкологов с междун. участием 4-5 июля 2006 г. – Барнаул, 2006. – С. 293-4.
18. Лазарева Д.Г. Первично-множественные опухоли с поражением органов женской репродуктивной систем и их взаимосвязь с экзо- и эндогенными факторами : Автореферат дисс. канд. мед. наук . – Барнаул, 2003. – 23 с.
19. Мерабишвили В.М. Особенности формирования базы данных больных с первично-множественными опухолями /Мерабишвили В.М., Попова С.П., Андреева Л.П. и др. // Актуальные вопросы организации и развития раковых регистров (Материалы международного симпозиума). – СПб., 1998. – С. 90-3.

Вирусы

В литературе имеются сообщения о возможной роли папилломавирусной инфекции в развитии синхронных первично-множественных злокачественных новообразований женских половых органов и органов орофарингеальной зоны [57; 58].

Заключение

В настоящее время накоплен значительный научно-исследовательский материал по изучению факторов, способствующих возникновению первично-множественных злокачественных новообразований. В качестве причин возникновения полинеоплазий могут выступать самые разнообразные факторы: генетические, экологические, ятрогенные, вирусные, внутрисредовые и множество других. Чаще всего возникновение первично-множественных опухолей обусловлено влиянием нескольких факторов. Помимо этого играет роль увеличение средней продолжительности жизни онкологических больных вследствие совершенствования методов специального лечения и улучшение выявляемости при мониторинге данных пациентов. Следовательно, должна быть разработана и внедрена комплексная программа динамического наблюдения и реабилитации онкологических больных после лечения первой опухоли. Данная программа должна включать как реабилитационный компонент, направленный на повышение противоопухолевой устойчивости и устранение причин злокачественных новообразований, так и дополнительные методы исследования, направленные на профилактику и раннее выявление последующих опухолей с учетом органов и систем, в которых их развитие наиболее вероятно.

20. Мерабишвили В.М. Регистрация и учет больных с первично-множественными злокачественными новообразованиями / Мерабишвили В.М., Попова С.П., Чепик О.Ф. и др. // Вопросы онкологии. Том 46. – № 1. – 2000. – С.40–3.
21. Мерабишвили В.М. Первично-множественные опухоли (методика формирования БД регистра)/ Мерабишвили В.М., Попова С.П., Чепик О.Ф. и др. // Новые информационные технологии в онкологической статистике. Под ред. В.М. Мерабишвили. – СПб., 2001. – С.142–7.
22. Непомнящая Е.М. Морфо-патогенетические и клинические аспекты первично-множественных злокачественных опухолей / Непомнящая Е.М., Орловская Л.А., Неродо Г.А. и др. // Современные технологии в онкологии: материалы VI Всероссийского съезда онкологов. Том 2. – М., 2005. – С.56–7.
23. Островская А.В. Вторые опухоли: частота развития, особенности биологии, прогноз / Островская А.В., Тюкалова Н.Р., Новичкова Г.А. и др. // Современная онкология. Том 4. – М., 2002. – № 2. – С.48–50.
24. Ременник Л.В. Состояние внешней среды в России / Л.В.Ременник, А.В.Тарасова / Злокачественные новообразования в России в 1980–1995 годах. Состояние внешней среды в России / Под редакц. РАМН В.И. Чиссова, проф. В.В. Старинского, к.м.н. Л.В. Ременник / Москва. – 1998. – С. 20–31.
25. Ременник Л.В. Эпидемиология злокачественных новообразований // Л.В.Ременник, В.В.Старинский / Под ред. акад. РАМН В.И. Чиссова, проф. С.Л. Дарьяловой / М., 2000. – С. 30–5.
26. Романчишен А.Ф. Патология щитовидной железы и опухоли других локализаций: возможные факторы этиопатогенеза /Романчишен А.Ф., Колосюк В.А.//Гормонозависимые опухоли. Материалы IX Всероссийской конференции онкологов. Под ред. чл.-кор. РАМН К.П. Хансона, акад. РАМН В.И. Чиссова. – СПб., 2002. – С. 396–8.
27. Россоха Е.И. Особенности распространения злокачественных лимфом в Алтайском крае с учетом внешних факторов и риска полинеоплазий: Дисс... канд. мед. наук. Барнаул, 2004. – 193 с.
28. Сельчук В.Ю. Первично-множественные злокачественные опухоли (клиника, лечение и закономерности развития). Дисс. ...д-ра мед. наук. – 1994.
29. Сельчук В.Ю. Проблема первичной множественности злокачественных новообразований в историческом аспекте / Сельчук В.Ю., Долгов И.Ю., Попова Т.Н. //Российский онкологический журнал. – 1998. - № 5. – С. 51–4.
30. Симонов Н.Н. Гормонозависимые первично-множественные опухоли / Симонов Н.Н., Максимов С.Я., Мельников О.Р. // Гормонозависимые опухоли. Материалы IX Всероссийской конференции онкологов. Под ред. чл.-корр. РАМН К.П. Хансона, академика РАМН В.И. Чиссова. – СПб., 2002. – С. 470–3.
31. Турусов В.С. Прогрессия опухолей: этиопатогенетические, морфологические и молекулярно-патологические аспекты // Арх. пат. – 1992. – Т.54, № 7. – С. 5–14.
32. Ханов А.М. К вопросу частоты, распространенности и некоторых причин первично-множественных новообразований / Ханов А.М., Ганцев К.Ш. //Современные технологии в онкологии: материалы VI Всероссийского съезда онкологов. Том 2. – М., 2005. – С. 95–6.
33. Чиссов В.И. Первично-множественные злокачественные опухоли / Чиссов В.И., Трахтенберг А.Х. // М.: Медицина, 2000. – 336 с.
34. Шойхет Я.Н. Злокачественные новообразования кожи в Алтайском крае./ Я.Н.Шойхет, А.Ф.Лазарев, В.П. Нечунаев и др.// Барнаул, 2006. – 163 с.
35. Шойхет Я.Н. Злокачественные опухоли костей в Алтайском крае./ Я.Н.Шойхет, А.Ф.Лазарев, П.А. Шпиготская и др.// Барнаул, 2004. – 184 с.
36. Шойхет Я.Н. Рак легкого в Алтайском крае./ Я.Н.Шойхет, А.Ф.Лазарев, А.Г.Агеев // Барнаул, 2006. – 155 с.
37. Шойхет Я.Н. Рак печени в Алтайском крае./Я.Н.Шойхет, А.Ф.Лазарев и др.//Барнаул, 2004. – 211 с.
38. Шойхет Я.Н. Рак толстой кишки в Алтайском крае./ Я.Н.Шойхет, А.Ф.Лазарев, К.Г.Мамонтов // Барнаул, 2006. – 212 с.
39. Якубовская Р.И. Патогенетические основы первичной множественности злокачественных опухолей / Якубовская Р.И., Кармакова Т.А., Борисов В.И. и др. // Первично-множественные злокачественные опухоли. Под ред. В.И.Чиссова, А.Х. Трахтенберга. – М., 2000. – С. 40.
40. Aaronson S.A. Growth factor and cancer// Sci. Mag. – 1990. – Vol. 254. - № 5035. – P. 1146–58
41. Aragona M. Telomere length maintenance in aging and carcinogenesis/ Aragona M., Maisano R., Panetta S. et al. // Int. J. Oncol. – 2000. – Vol. 17 – P. 981–9.
42. Ares S.L. Multiple primary cancer in adults (MPCA)/S. L. Ares, S. Polo, L. Ezcurdia et al. // 42 th Annual Meeting of American Society Oncology. – Atlanta, Georgia. – June 2-6, 2006. – 2006 Annual Meeting Proceedings Part 1 (a supplement to the Journal of Clinical Oncology. – [16027]
43. Artandi S.E. Telomere dysfunction promotes non-replicative translocations and epithelial cancers in mice/ Artandi S.E., Chang S., Lee L. et al. // Nature. – 2000. – Vol. 406. – P. 641 – 5.
44. Anastassiades O. Multicentricity in breast cancer. A study of 366 cases / Anastassiades O., Iakovou E., Stravidou N. et al. // Am. J. Clin. Path. – 1993. – Vol. 99, № 3. – P. 238–43.
45. Anisimov V.N. Age as a risk factor in multistage carcinogenesis // In «Comprehensive Geriatric Oncology», Harwood Academic Publishers. – 1998. – P. 157–78.
46. Anisimov V.N. Life span extension and cancer risk: myths and reality / Exp. Gerontol. – 2001. Vol. 36. – P. 1101–36.
47. Anisimov V.N. Mutant and genetically modified mice as models for studying the relationship between aging and carcinogenesis // Mech. Ageing Dev. – 2001. – Vol. 122. – P. 121–1255.
48. Blatt J. Sekond malignancies in very-long term survivors of childhood cancer. / Blatt J., Olshon A., Gula M.J. et al. //Amer. J. Med. – 1992. – Vol. 93, N1. – P. 57–60.
49. Bodmer D. Understanding familial and non-familial renal cell cancer./ Bodmer D., van den Hurk W., van Groningen J.J. et al. Hum. Mol. Genet. – 2002. – Vol. 11. – P. 2489–8.
50. Boice J.D. Multiple primary cancers in Connecticut and Denmark/ Boice J.D. et al. //National cancer inst. Lionogr. – 1985. – Vol. 68. – P. 161.
51. Cury M. Multiple primary neoplasms in colorectal cancer patients//M. Cury, N.M.Forones//Arq. Gastroenterol./2000. – Vol. 37. – P. 211–5.
52. Chen Y. Incidence of second primary breast cancer among women with a first primary in Manitoba, Canada / Chen Y., Semenciw R., Kliewer E., Shi Y. // Breast Cancer Res. Treat. – 2001. – Vol. 67(1). – P. 35–40.

53. Cruz-Correa M. Long-term treatment with sulindac in familial adenomatous polyposis : a prospective cohort study / Cruz-Correa M., Hyland L.M., Romans K.E. et al. // Gastroenterology . – 2002. – Vol. 122. – P. 362–7.
54. Eccles D. Guidelines for a genetic risk based approach to advising women with a family history of breast cancer./ Eccles D., Evans D., Mackay J. et al. // J. Med. Gen. – 2000. – Vol. 37, № 3. – P. 20–209.
55. Fay Michael P. Age-conditional probabilities of developing cancer / Fay Michael P., Ruth Pfeiffer, A. Cronin Kathleen et al. // Statist. Med. – 2003. – Vol. 22(11). – P. 1837 – 1848.
56. Ferbeyre G. Ageing : the price of tumor suppression ?/ Ferbeyre G., Lowe S.W.//Nature. – 2002. – Vol. 415. – P. 26–7.
57. Fisher G. Cumulative risk of second primary cancers in women with index primary cancers of uterine cervix and incidence of lower anogenital tract cancers, Michigan, 1985 – 1992/ Fisher G., Harlow S.D., Schottenfeld D.// Gynecol.Oncol. – 1997. – Vol. 64. – P. 213–23.
58. Fu Y.S. Human papillomavirus identified by nucleic acid hybridization in concomitant nasal and genital papillomas/ Fu Y.S. et al. //Laringoscope. – 1992. - Vol. 102, № 9. – P. 10149.
59. Fugii H. Genetics of synchronous uterine and ovarian endometrioid carcinoma:combined analyses of loss of heterozygosity, PTEN mutation, and microsatellite instability/ Fugii H., Matsumoto T., Yoshida M. et al. // Hum. Pathol. – 2002. – Apr. Vol. 33 (4). – P.421–8.
60. Gitsch G. Endometrial cancer in premenopausal women 45 years and younger / Gitsch G., Hanzal E., Jensen D. et al. //Obstet. Gynec. – 1995. – Vol.85, N4. – P. 504–8.
61. Gueniot C.H. Maladie de Hodgkin second cancer et deuxieme sexe//J. Int. Med. – 1993. – N 282. – P. 16–7.
62. Gupta K. Insulin: a novel factor in carcinogenesis/ Gupta K., Krishnaswamy G., Karnad A. et al. // Am. J. Med. Sci. – 2002. – Vol. 323. – P. 140–5.
63. Greenwald P. Cancer chemoprevention // BMJ. – 2002. – Vol. – 324. – P. 714–8.
64. Haggman M. Characterization of localized prostatic cancer distribution, grading and pT-staging in radical prostatectomy specimens / Haggman M., Norberg M. et al.// Scand. J. Urol. Nephrol.. – 1993. – Vol. 27, № 1. – P. 713.
65. Hanson K.P. Concordance of allelic imbalance profiles in synchronous and metachronous bilateral breast carcinomas./ Hanson K.P., Theillet C. // Int. J. Cancer. – 2002. – Vol. 100. – P. 557–64.
66. Hall P. NonHodgkin,s lymphoma and skin malignancies-shared etiology? / Hall P., Rosendahl I., Mattsson A. et al. // Int. J.Cancer. 1995. – Vol. 62, № 5. – P. 519–22.
67. Hubasek I. Nadorove multiplicity u nemocriych s rakovinou hrtanu// Hubasek I.// Csl. Otolaryng. – 1989. – Vol. 38, № 5. – P. 273.
68. Imamura N. Association between ATL and non-hematopoietica neoplasms / Imamura N., Inada T., Tagaya Y. et al. // Hematol. Oncol. – 1993. – Vol.11, № 3. – P. 127–7.
69. Imyanitov E.N. Molecular pathogenesis of bilateral breast cancer./ Imyanitov E.N., Hanson K.P. // Cancer Lett. – 2003. – Vol. 191. – P. 1–7.
70. Iussila T. Oncogenes and growth factors as indicators of carcinogen exposure/ Iussila T., Makinen M., Sten back F. // Exp. Toxicol. Pathol.. – 1996. – V. 48, № 2 – 3. – P. 145–53.
71. Kelly M.D. Carcinoma of the thyroid gland and Gardner,s syndrome// Kelly M.D., Hugh T.B., Fields A.S. et al.// Aust. N. Z. J. Surg. – 1993. – Vol. 63, № 6. – P. 505–9.
72. Loft S. Cancer risk and oxidative DNA damage in man/ Loft S., Poulsen H.E. // J. Mol. Med. – 1996. –Vol. 74. – P. 297–312.
73. Luzatto L. The mechanisms of neoplastic transformation // Eur. J. Cancer. – 2001. – Vol. 37. – P.S. 114–7.
74. Napalkov N. Prevention and Control of Noncommunicable Diseases. In: Health/B. P. Mansourian. ed. / Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS), UNESCO. Oxford, UK. Eolss Publishers, 2002.
75. Neglia J. Sekond neoplasms after acute lymphoblastic leukemia in children/ Neglia J., Meadows A.T., Robinson L.I., et al. // New Engl. J. Med. – 1991. – Vol. 325, N 19. – P. 1330–6.
76. Newell G. Multiple primary neoplasms in blacks compared to whites. IV. Further cancer in patients with cancer of the digestive organs/ Newell G., Krementz E., Roberts J.// J. Natl. Cancer Inst. – 1975. – Vol. 54. – P. 331–4.
77. Oberley T.D. Antioxidant enzyme levels in cancer/ Oberley T.D., Oberley L.W.//Histol. Histopathol. – 1997. – Vol. 12. – P. 525–35.
78. Ono K. Cancer superimposed on adult T-cell leukemia/ Ono K., Shomamoto Y., Suga K. et al.// Cancer. – 1989. – Vol. 64, № 3. – P. 635–40.
79. O’Riordan D.S. Surgical management of insulinoma associated with multiple endocrine neoplasia type/ O’Riordan D.S., O’Brien T., van Heerden J.A. et al. //Wld. J. Surg. – 1994. – Vol. 18, № 4. – P. 488–94.
80. Parkin D.M. Cancer burden in the year 2000. The global picture./ Parkin D.M., Bray F.I., Devesa S.S.// European Journal of Cancer, 2001. – 37. Suppl. S4–66.
81. Powell S.M. Direct analysis for familial adenomatous polyposis mutations. Mol. Biotechnol. – 2002. –Vol. 20. – P. 197–207.
82. Rose P.G. Multiple primary gynecologic neoplasms in young HIV-positive patient / Rose P.G., Fraire A.E. // J. Surg. Oncol. – 1993. – V. 1. 53, № 4. – P. 269–72.
83. Schoenberg B. Multiple primary malignant neoplasms. – Berlin: Springer-Verlag, 1977.
84. Schulz T.F. HIV infection and neoplasia/ Schulz T.F., Boshoff C.H., Weiss R.A. // Lancet. – 1996. – Vol. 348, № 9027. – P. 587–91.
85. Tucker M. Bone sarcoma linked to radiotherapy and chemotherapy in children/ Tucker M., D’Angio G., Boice G. et al. // New J. Med. – 1987. – Vol. 317. – P. 588–93.
86. Watanabe S. Epidemiology of primary multiple neoplasms / Watanabe S.// Jap. J. Cancer Anti Chemother. – 1990. – Vol. 17, № 5. – P. 967–73.

Поступила 26.11.2008.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ (ОКОНЧАНИЕ)

МХ	меланома хориоидеи
НА	нитраты
НИ	нитриты
ННП	натрия нитропруссид
НПМП	неоднородное постоянное магнитное поле
НС	нитросоединения
НЭ	нуклеиновые эквиваленты
НХЛ	неходжкинские лимфомы
НЭО	нейроэндокринные опухоли
ОДА	опорно-двигательный аппарат
ОЗ	острота зрения
ОКТ	оптическая когерентная томография
ОП	опухолевый плеврит
ОФР	озонированный физиологический раствор
ПОЛ	перекисное окисление липидов
ПКГ	программа клеточной гибели
ПСА	простат-специфический антиген
ПХТ	полихимиотерапия
Р	резорбция
ПР	полная резорбция
ЧР	частичная резорбция
РД	разовая доза
РМЖ	рак молочной железы
МРМЖ	метастатический рак молочной железы
РМП	рак мочевого пузыря
РП	рак пищевода
РПЖ	рак предстательной железы
ГР РПЖ	гормонорезистентный рак предстательной железы
РТК	рак толстой кишки
РТХТ	регионарная термохимиотерапия опухолей
РШМ	рак шейки матки РШМ
РЯ	рак яичников
С	стандартизированной субстанции
СДТ	сонодинамическая терапия опухолей
СКТ	спиральная компьютерная томография
СМ	спинной мозг
СОВС	стандартные образцы веществ-свидетелей
СПЖ	средняя продолжительность жизни
СКПК	гемопозитические стволовые клетки периферической крови
СПС	сосудистоподобные структуры
ТАБ	тонкоигольная аспирационная биопсия
ТАМ	тамоксифен
ТЛ	термолипосомы
ТРО	торможение роста опухоли
УЗ	ультразвуковое воздействие
УЗ-ГТ	ультразвуковая гипертермия
УПЖ	увеличение продолжительности жизни
ФДВ	фотодинамическое воздействие
ФДТ	фотодинамическая терапия
АФДТ	антибактериальной фотодинамической терапии
ИФДТ	интерстициальная фотодинамическая терапия
ФК	флюоресцентная контрастность
ФС	фотосенсибилизатор(ы)
5-ФУ	5-фторурацил
ХМЛ	хронический миелолейкоз
ХНВ	хориоидальная неоваскуляризация
ХТ	химиотерапия
ЦГО	цитогенетический ответ
ЭСК	эмбриональные стволовые клетки
ЭХЛ	электрохимический лизис
CD (CD)	кластеры дифференцировки
Chol	холестерин
EMEA	European Medicines Evaluation Agency
HLA	
NDDO	New Drug Development Organization
NO	оксида азота
iNOS	индуцибельная NO-синтетаза
PC	фосфатидилхолин
ROS	свободные радикалы кислорода
UICC	Union International counter cancer