

ISSN 1726-9784

# РОССИЙСКИЙ БИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ И НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

№ 1 Том 6 2007 г.

УДК 616-085.2/.3

## Учредители

ГУ 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, Н.А. Оборотова, д-р фарм. наук, проф.

## Редколлегия

М.А. Барышникова, Н.А. Батурина, О.А. Бочарова, д-р биол. наук (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 (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. Тюлядин, д-р мед. наук, проф. (Москва), Ю.В. Шишкин, д-р мед. наук (Москва),  
И.Ж. Шубина канд. биол. наук (Москва), Р.И. Якубовская, д-р мед. наук, проф. (Москва)

## Редакционный совет

А.П. Арзамасцев, академик РАМН, д-р фарм. наук, проф. (Москва),  
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), В.А. Голькин, д-р техн. наук, проф. (Санкт-Петербург),  
М.И. Давыдов, академик РАН и РАМН, д-р мед. наук, проф. (Москва),  
М.Р. Личиницер, чл.-корр. РАН, д-р мед. наук, проф. (Москва),  
В.А. Тутьян, академик РАМН, д-р мед. наук, проф. (Москва),  
В.И. Чиссов, академик РАМН, д-р мед. наук, проф. (Москва)

«Российский биотерапевтический журнал» является рецензируемым изданием

Подписной индекс 81679

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

Для медицинских учреждений бесплатно

Регистрационный номер:

ПИ №77-11695 от 21.01.2002 г.

## Почтовый адрес:

115478 Москва, Каширское ш., 24  
НИИ Экспериментальной диагностики и терапии опухолей  
ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН  
Тел.: 323 57 00, 324-10-65; факс: 324 22 74;  
E-mail: [biotherapy\\_rbj@mail.ru](mailto:biotherapy_rbj@mail.ru)  
Интернет-версия: [www.rosoncweb.ru/rbj/](http://www.rosoncweb.ru/rbj/)  
ISSN электронной версии 1726-9792

Издательская группа РОНЦ:  
115478 Москва, Каширское шоссе, д. 24.  
Тел. (495) 324-2470; [publisher1@cancercenter.ru](mailto:publisher1@cancercenter.ru)

Объем 6,13 усл. печ. листов,  
подписано в печать 01.03.2007  
Тираж 1000 экз.

# СОДЕРЖАНИЕ

## Материалы VI Всероссийской научно-практической конференции «Отечественные противоопухолевые препараты»

Молекулярная биология .....	3
Фотодинамическая терапия .....	9
Химиотерапия .....	29
Новые лекарственные препараты .....	41
Биотерапия .....	55
Диагностика .....	63
Нанотехнологии .....	72
Физические методы воздействия .....	80
Разное .....	89

# МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

Д. Ю. Блохин, Л. В. Карпова, Н. К. Власенкова,  
А. А. Соколовская

## СТАНОВЛЕНИЕ ФЕНОТИПА МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК МОЖЕТ ОПРЕДЕЛЯТЬСЯ ИЗМЕНЕНИЕМ СВОЙСТВ ИХ МИТОХОНДРИЙ

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

Полученная нами в предыдущих исследованиях клональная Т-лимфобластная клеточная линия Jurkat/A4 (Патент РФ № 2267532) обладает фенотипом множественной лекарственной устойчивости (МЛУ), не связанной с гиперактивностью АВС-транспортёров. Не удается вызвать активацию программы гибели этих клеток (апоптоз) никакими воздействиями, включая: применение противоопухолевых препаратов, рентгеновское облучение, окислительный стресс, депривацию ростовых факторов, воздействие цитокинов семейства TNF. Многократная эскалация дозы цитотоксического воздействия приводит к клеточной гибели по механизму некроза.

Иммунофенотип клеток Jurkat/A4 весьма сходен с набором поверхностных маркеров чувствительных к химиотерапевтическим препаратам клеток родительской линии Jurkat: клетки обеих линий одинаково экспрессируют маркеры дифференцировки, пролиферации и гистосовместимости CD3+/CD4+/CD7+/CD8-/CD38+/CD25-/CD71+/HLA-ABC+/HLA-DR-. Как было показано ранее, клетки линии Jurkat/A4 нечувствительны по поверхностной экспрессии рецептора CD95, однако транскрипционная активность соответствующего гена в них сохранена. Нами обнаружено, что длительное культивирование Jurkat/A4 в среде без агонистических МКА анти-CD95 (агент селекции, использованный для получения данной линии клеток) приводит к восстановлению поверхностной экспрессии рецептора, но не отменяет приобретенного фенотипа МЛУ. Обнаружились кардинальные различия клеток 2 линий по экспрессии молекул адгезии ICAM-3 (CD50): 100 % клеток родительской линии экспрессируют данный антиген, а на поверхности клеток Jurkat/A4 он не обнаруживается.

Резекспрессия рецептора CD95 на поверхности клеток Jurkat/A4 не сопровождается восстановлением сигнального пути апоптоза при стимуляции агонистическими МКА анти-CD95: их применение не приводит к активации каспазы-3, так же, как использование противоопухолевого антибиотика блеомцина. Одновременно каждое из этих воздействий через 6–9 ч активирует каспазу-3 в клетках родительской линии, максимум активности фермента наблюдается к 12 ч инкубации, повышенная активность сохраняется до 24 ч.

Известно, что в клетках II типа, к которым относится линия Jurkat, в рецептор-опосредованный сигнальный путь апоптоза вовлечен каскад активации митохондриального пути: каспаза-8 → Bid → tBid → митохондрии, который индуцирует падение трансмембранного потенциала митохондрий, сопровождающееся выходом в цитозоль проапоптотических факторов цитохрома *c*, Araf-1 и AIF. Лекарственно-индуцированный апоптоз в большинстве случаев связан с митохондриальным сигнальным путем. Для детекции изменения трансмембранного потенциала митохондрий мы использовали флюоресцентный зонд JC-1, молекулы которого под воздействием высокого потенциала митохондриальных (но не плазматических) мембран склонны к димеризации, сопровождающейся сдвигом максимума флюоресценции из зеленой в красную зону спектра; падение потенциала митохондрий препятствует этому сдвигу. Обнаружено, что в отличие от митохондрий клеток Jurkat инкубация клеток Jurkat/A4 с винкристином, гидроксимочевинной или циклогексимином не приводит к падению трансмембранного потенциала митохондрий, а цитозар, метотрексат и блеомцин индуцируют даже гиперполяризацию митохондриальных мембран.

Вероятно, до сих пор не установленная причина мультирезистентного фенотипа клеток Jurkat/A4 связана с особыми свойствами их митохондриального аппарата – подобная идея уже обсуждалась в единичных научных публикациях. Дальнейшие исследования свойств

и структуры митохондрий клеток Jurkat/A4 могут пролить свет на один из молекулярных механизмов становления фенотипа МЛУ клеток злокачественных опухолей.

## Д. Ю. Блохин<sup>1</sup>, Д. С. Баранов<sup>1</sup>, Н. К. Власенкова<sup>1</sup>, А. Д. Михайлов<sup>2</sup>, А. А. Соколовская<sup>1,2</sup> РОЛЬ ЛИПИДНЫХ МИКРОДОМЕНОВ КЛЕТОЧНОЙ МЕМБРАНЫ В ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ РЕЦЕПТОРОВ СМЕРТИ CD95/FAS/APO-1

<sup>1</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

<sup>2</sup>Центр биотехнологии Университета г. Турку, Финляндия

**Введение.** Структура плазматической мембраны клеток эукариот, организованная в форме липидного бислоя, не однородна по составу: в среде полужидкой липидной фазы имеются обособленные участки – липидные микродомены, рафты (от англ. *raft* – плот), отличающиеся от окружения по плавучей плотности и липидной композиции. Рафты представляют собой динамические ансамбли сфинголипидов, обогащенные холестерином, локально «цементирующим» фрагмент липидного бислоя, в связи с чем латеральная подвижность его внешнего и внутреннего листов относительно друг друга существенно ограничена. Со стороны цитозоля микродомены взаимодействуют с сократимыми элементами цитоскелета, чем обусловлена их способность сохраняться в составе клеточных остатков после мягкой соллобулизации мембран детергентами. Таким образом, рафты являются своеобразными подвижными трансмембранными платформами, способными к целенаправленным перемещениям по клеточной поверхности. С рафтами ассоциированы многие трансмембранные рецепторы, причем такая ассоциация может носить конститутивный или функциональный характер: в 1-м случае рецептор встроен в рафт (или рафт образован вокруг трансмембранного белка) постоянно, во 2-м – транслокация рецептора или его отдельных компонентов в состав микродомена происходит после связывания со своим лигандом или перекрестной корцепции. Показано, что такая ассоциация необходима для проявления функциональной активности многих трансмембранных рецепторов: разрушение существующих микродоменов экстракцией холестерина из плазматической мембраны предынкубацией клеток с метил-β-циклодекстрином (МβCD), нистатином или филипином лишает рецепторы способности к возбуждению. И, напротив, искусственная стимуляция образования липидных микродоменов применением ET-18-ОСН<sub>3</sub> или церамидов симулирует генерацию специфического сигнала рецептора даже в отсутствие лиганда.

**Цель исследования.** Изучить роль липидных микродоменов в развитии CD95/Fas/APO-1-индуцированной гибели опухолевых клеток.

**Материалы и методы.** Линии опухолевых клеток Н-9, MCF-7 (I типа) и Jurkat (II типа), агонистические МКА анти-CD95 (клон IPO-4, не модифицированные или меченные флуорофором Cy3), DIC-конфокальная микроскопия, проточная цитометрия.

**Результаты.** Через 2–10 мин после начала инкубации клеток Н-9 (I типа) с МКА IPO-4/Cy3 микроскопически наблюдается кластеризация антигена CD95, его латеральный дрейф к одному из клеточных полюсов (кэппинг), а к 30 мин инкубации – интернализация рецептора, сопровождающаяся блэббингом клеточной стенки (эффторная фаза апоптоза). Инкубация клеток Jurkat (II типа) с МКА IPO-4/Cy3 на протяжении до 60 мин обнаруживает диффузное мембранное окрашивание без развития кэппинга и интернализации.

Экстракция мембранных липидов обработкой клеток Тритоном X-100 сохраняет CD95 в составе остатков клеток MCF-7 и сопровождается существенной потерей (до 70 %) антигена остатками клеток Jurkat. Предынкубация интактных клеток с МКА не изменяет результата, рассчитанного по смещению модуля флюоресценции в цитометрическом анализе.

Предынкубация клеток MCF-7 с МβCD уменьшает долю гиподиплоидной субпопуляции после CD95/Fas/APO-1-опосредованной индукции апоптоза (МКА IPO-4, 250 нг/мл, 24 ч),

но не влияет на долю гиподиплоидных клеток Jurkat после аналогичной стимуляции.

**Выводы.** CD95/Fas/APO-1-рецептор клеток Jurkat (II тип) конститутивно не ассоциирован с липидными микродоменами мембраны и не требует такой ассоциации для реализации своей активности. Напротив, клетки MCF-7 показывают высокую степень ассоциации CD95/Fas/APO-1-рецептора с липидными микродоменами, а в случае разрушения данной связи теряют чувствительность к индукторам CD95-опосредованного апоптоза.

*Т. А. Богуш, А. Б. Равчеева, Е. А. Богуш, Т. А. Красноперова, Е. О. Игнатова, Г. Ю. Чемерис, Р. Ю. Раманускайте, Н. О. Вихлянцева, Т. Н. Заботина, З. Г. Кадагидзе*

### **НОВЫЙ МАРКЕР РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ТАМОКСИФЕНУ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ СТАТУСОМ ЭСТРОГЕНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ**

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

**Введение.** Несмотря на стремительное развитие гормональной терапии, тамоксифен (ТАМ), один из наиболее «старых» препаратов, по-прежнему занимает лидирующую позицию в лечении рака молочной железы (РМЖ) с положительным статусом эстрогеновых рецепторов (ЭР). Ограничением эффективности ТАМ является врожденная и индуцированная резистентность, одной из причин которой считается изменение ЭР в опухоли. Определенная роль принадлежит опухолевым маркерам, в том числе Her2/*neu*. Однако, анализируя данные литературы, мы пришли к заключению, что по крайней мере еще одной из причин, снижающей эффективность ТАМ, может быть его конкурентное (по отношению к эстрогеновым рецепторам) взаимодействие с ABC-транспортёрами, ассоциированными с множественной лекарственной резистентностью опухолей.

**Материалы и методы.** Гипотеза проверена на клетках эритроидного лейкоза человека K562, экспрессирующих ABC-транспортёры – Pgp и MRP, а также на клетках, полученных из хирургического биопсийного материала РМЖ. Взаимодействие ТАМ с Pgp и MRP оценивали методом проточной цитофлуориметрии по изменению флуоресценции клеток после инкубации с мышинными моноклональными антителами, прямо меченными фикоэритрином. Для выделения области специфической флуоресценции клетки параллельно инкубировали с изотипическими антителами, мечеными тем же флуорохромом.

**Результаты.** В модельной системе и, что наиболее важно, при исследовании РМЖ продемонстрировано зависимое от дозы взаимодействие ТАМ с Pgp и MRP. Это указывает на конкуренцию между Pgp, MRP и ЭР за связывание с ТАМ и свидетельствует об уменьшении активной внутриклеточной концентрации ТАМ, взаимодействующего с ЭР, то есть о снижении эффективности ТАМ при лечении РМЖ с экспрессией Pgp и/или MRP.

**Выводы.** Pgp и MRP являются неблагоприятными прогностическими маркерами эффективности ТАМ при лечении РМЖ с положительным статусом ЭР. При этом очевидно, что чем больше в клетке выявляется этих транспортных белков, тем больше должна быть их прогностическая значимость для предсказания резистентности к ТАМ. Важно подчеркнуть, что речь не идет о прогнозировании механизма лекарственной резистентности, ассоциированной с выбросом препаратов из клеток при участии ABC-транспортёров, представителями которых являются Pgp и MRP. Мы обсуждаем принципиально новый путь снижения эффективности ТАМ, который обусловлен внутриклеточной «инактивацией» ТАМ при его конкурентном связывании с Pgp и/или MRP.

*Поддержано Грантом РФФИ (№ 07-04-00082-а).*

*И. В. Буравцова, А. К. Голенков, Е. В. Катаева, Г. А. Дудина, Л. Л. Высоцкая, К. В. Седов*

### **ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ФАКТОРОВ РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ И ИХ РЕЦЕПТОРОВ У БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ**

*Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского, Москва*

**Введение.** В настоящее время существуют данные, что при развитии гемобластов происходит активация ангиогенеза. К числу важных факторов, регулирующих этот процесс в опухолях, относятся

факторы роста эндотелия сосудов – VEGFs, которые осуществляют свое действие на клетки благодаря взаимодействию со своими рецепторами – VEGFRs.

**Цель исследования.** Изучение уровня экспрессии генов и их рецепторов у больных множественной миеломой (ММ) и сопоставление полученных данных с клиническими характеристиками.

**Материалы и методы.** В работе методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) была исследована экспрессия факторов VEGFA, VEGFC и VEGFD и их рецепторов VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3. В результате исследования получены 54 образца аспирата костного мозга от 41 пациента с множественной миеломой в возрасте от 46 до 70 лет. Из аспирата получали фракцию плазматических клеток с помощью градиентного центрифугирования с фиколом, из которых выделялась суммарная РНК. После обработки сум.РНК выполнялась ПЦР со специфическими праймерами.

**Результаты.** На настоящий момент проанализирована экспрессия всех факторов VEGFs и их рецепторов VEGFRs у 16 пациентов с ММ. Из этих данных видно, что VEGF-A высоко экспрессирован у большинства пациентов. Гены VEGF-C и VEGF-D экспрессированы в меньшем количестве. Однако выявлена повышенная частота экспрессии VEGF-D: при исследовании экспрессии VEGFRs оказалось, что экспрессия VEGFR-2, основного рецептора VEGF-A, отсутствует, а экспрессия рецепторов VEGFR-1, VEGFR-3 обнаружена во всех исследованных образцах. Показано, что VEGF-A активен у большинства больных, но экспрессия основного рецептора VEGF-A -VEGFR-2, следовательно, аутокринная регуляция плазматических клеток этим фактором маловероятна. Но, тем не менее, учитывая высокий уровень экспрессии VEGF-A, можно предположить, что этот фактор способен стимулировать пролиферацию клеток эндотелия опосредованно. Впервые получены данные о различиях экспрессии VEGF-A и повышенной экспрессии VEGF-D. Возможно, VEGF-D является одним из аутокринных регуляторов, так как его рецептор VEGFR-3 высоко экспрессирован.

**Выводы.** Таким образом ММ является одним из видов гемобластозов, при котором активность ангиогенеза служит важным прогностическим фактором.

*В. Э. Гурцевич*

### **ОНКОГЕННЫЕ ВИРУСЫ ЧЕЛОВЕКА: ОПАСНОСТЬ РЕАЛЬНАЯ И МНИМАЯ**

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

О причастности вирусов к возникновению опухоли впервые сообщил американский исследователь Пэйтон Раус, доказавший в 1907 г. вирусную природу куриной саркомы. Позже опухоли вирусного происхождения были обнаружены у различных представителей животного мира, включая ископаемых. Появились и различные теории, объясняющие механизм действия онкогенных вирусов. Одна из таких теорий, послужившая основой для современных представлений о механизме вирусного канцерогенеза, была высказана еще в 1945 г. отечественным ученым Л. А. Зильбером. Она постулировала внедрение генетического материала вируса в генетический аппарат клетки, в результате чего нормальная клетка превращалась в злокачественную. Среди первооткрывателей онкогенных вирусов у животных следует назвать и нашего соотечественника профессора Н. П. Мазуренко. На мышинной модели им впервые была показана способность инфекционных вирусов активировать латентно персистирующий у этих животных вирус лейкоза мышей.

В настоящее время доказано, что среди опухолей человека примерно 15–20 % составляют опухоли вирусного происхождения. Одним из наиболее ярких представителей вирусов, вызывающих такие опухоли, является герпесвирус Эпштейна-Барр (ВЭБ). С ним связано возникновение как некоторых доброкачественных, так и злокачественных новообразований, таких, как лимфома Беркитта, лимфома Ходжкина, неходжкинские лимфомы, рак носоглотки, определенные формы рака желудка и др. Доказано, что механизм ВЭБ-ассоциированного канцерогенеза обусловлен функционированием генов латентной инфекции вируса. Белки, кодируемые этими генами, способны оказывать модифицирующее действие на сигнальные пути клетки. Наибольший вклад в трансформирующее действие вируса вносит латентный мембранный белок LMP1 (кодируемый одноименным геном, LMP1), признанный в настоящее время в ка-

честве вирусного онкогена. Другими не менее яркими представителями онкогенных вирусов человека являются папилломавирусы (ППВ) 16-го и 18-го типов, вызывающие рак шейки матки. Установлено, что трансформирующими потенциами у этих вирусов обладают, как и у ВЭБ, гены латентной инфекции, в основном *E6* и *E7*, в меньшей степени *E5*. Каждый из этих генов вносит свой вклад в нарушение сигнальных путей в инфицированной клетке, выражающийся в усилении ее пролиферативной активности и накоплении в ней генетических изменений. Механизм действия этих генов сводится к угнетению функционирования клеточных генов *p53* и *pRb*, контролирующих процессы пролиферации и апоптоза мутировавших клеток. В докладе будут представлены возможные сценарии возникновения новообразований, ассоциированных с ВЭБ и ППВ 16/18 типов, факторы, способствующие проявлению их онкогенных потенциалов, а также современные представления о профилактике и лечении этих новообразований.

*С. В. Дидук, К. В. Смирнова, Н. А. Шалгинских*  
**СИКВЕНСНЫЙ АНАЛИЗ  
 ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ГЕНА *LMP1*  
 ВИРУСА ЭПШТЕЙНА-БАРР У БОЛЬНЫХ  
 ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ  
 ЗАБОЛЕВАНИЯМИ В РОССИИ**

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

**Введение.** Герпесвирус Эпштейна-Барр (ВЭБ) – этиологический агент ряда новообразований человека, в том числе доброкачественных и злокачественных. Один из белков латентной инфекции ВЭБ, латентный мембранный белок 1 (*LMP1*), кодируемый одноименным геном *LMP1*, признан вирусным белком-онкогеном. Молекулярный анализ *LMP1* различного клинического и географического происхождения позволил обнаружить варианты гена с разными типами мутаций, способных привести к изменению его биологической активности.

**Задача исследования.** Поскольку информация о штаммовых различиях *LMP1* ВЭБ, персистирующих в России, отсутствует, были проведены сиквенирование и сиквенс-анализ образцов *LMP1*, амплифицированных из биологического материала российских больных различными лимфопролиферативными ВЭБ-ассоциированными заболеваниями и здоровых лиц. При этом представлялось важным выявить среди часто встречающихся аминокислотных замен мутации, критические для возникновения изучаемой патологии.

**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 сиквенирование фрагментов гена *LMP1* ВЭБ.

**Результаты.** 1) практически полностью отсутствуют варианты, имеющие замены аминокислот в N-терминальной цитоплазматической области и в первых трансмембранных доменах молекулы *LMP1*; 2) полностью отсутствует мутация G212S (замена глицина на серин в 212 положении); 3) случаи Сао-подобной делеции 30 п.н. в STAR-2-домене С-концевой области *LMP1* являются спорадическими, редко выявляемыми; 4) во всех образцах *LMP1* присутствует мутация F106Y (фенилаланин на тирозин), кроме двух случаев, отнесенных к классическому прототипу *LMP1*-95-8.

**Выводы.** Таким образом, варианты *LMP1* российского происхождения, представляют собой смешанную гетерогенную группу, среди которых встречаются как ранее охарактеризованные, так и предположительно новые генетические варианты. В то же время специфическая ассоциация между определенными российскими вариантами *LMP1* и конкретными нозологическими формами болезни (ИМ, ЛХ и НХЛ) нами не обнаружена.

*Работа осуществлялась при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 04-0448249а.*

*Е. Л. Кадырова*  
**ЭКСПРЕССИЯ КЛЕТОЧНЫХ  
 АПОПТОТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ  
 В ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ БОЛЬНЫХ  
 САРКОМЫ КАПОШИ**

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

**Введение.** Экспериментальные исследования саркомы Капоши (СК) способствуют улучшению терапии этого васкулярного онкологического заболевания вирусного происхождения.

**Задача исследования.** Изучить экспрессию ряда клеточных апоптотических белков в опухолевой ткани больных СК разных клинических стадий.

**Материалы и методы.** Изучено 25 образцов опухолевой ткани от 17 ВИЧ-негативных больных СК, в 64 % случаев ассоциированных с HHV-8: 1-я группа содержала 13 образцов от больных СК начальной стадии (пятна, бляшки); 2-я группа – 12 образцов от больных СК продвинутой стадии (узлы, узелки и опухоль). В качестве контроля были изучены 9 образцов ткани от больных с различными эндотелиальными патологиями доброкачественной природы (3-я группа). Экспрессию и локализацию белков исследовали методом ИГХ на 4–5 мм формалин-фиксированных парафиновых срезах. Использованы следующие моно- и поликлональные антитела к CD95/FASR (IC0160; РОНЦ); Bcl-2, FasL, p53, Ki67/KiS5, Vax (DAKO Corp.).

**Результаты.** ИГХ-исследования показали, что с прогрессией СК: 1) экспрессия всех тестируемых нами клеточных апоптотических маркеров значительно варьирует в опухолевых образцах, возможно, отражая прежде всего иммунный статус пациента, его генетические особенности и стадию/подстадию развития злокачественного процесса; 2) экспрессия изучаемых белков в эндотелиальных и веретеновидных клетках уменьшается примерно вдвое. В то же время пролиферативный индекс во 2-й группе возрастает в 1,5 раза; 3) при анализе всех тканевых структур только для 2 апоптотических маркеров разных сигнальных путей (bcl2, FASR), а также индекса пролиферации Ki67 мы наблюдали изменение степени экспрессии.

**Выводы.** Полученные данные позволяют предположить, что наиболее важным для оценки агрессивности патологического процесса при СК является анализ экспрессии 3 маркеров: анти-апоптотического белка bcl-2, про-апоптотического клеточного антигена FASR (CD95) и ядерного показателя пролиферации клеток Ki67. Последний маркер, как было показано ранее другими исследователями для ряда опухолей, связан с общей выживаемостью пациентов. Выявление экспрессии клеточных апоптотических белков, особенно bcl-2 и FASR, на таких тканевых структурах, как эпидермис, строма, кератиноциты, волосные сосочки, железистые структуры и др., возможно, отражает их паракринное воздействие на веретеновидные клетки, что способствует прогрессии СК.

*А. В. Лихтенштейн*  
**ГЕНОДИАГНОСТИКА РАКА: ПРОБЛЕМЫ,  
 ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ**

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

Генодиагностика злокачественных новообразований – новое направление, возникшее на стыке экспериментальной и клинической онкологии: достижения фундаментальных исследований трансформируются в решение важных практических задач. Теоретической предпосылкой генодиагностики рака является то обстоятельство, что канцерогенез есть результат последовательного накопления в соматических клетках организма мутаций нескольких (от 4 до 12) функционально важных генов, участвующих в клеточной пролиферации, апоптозе и репарации ДНК. Повреждение их тем или иным способом ведет к «асоциальному» поведению клетки и формированию опухолевого очага. Таким образом, обнаружение в различных биологических средах организма измененных нуклеотидных последовательностей этих генов (т.е., ДНК-маркеров) – свидетельство присутствия в нем трансформированных клеток. Важное отличие опухолевых ДНК-маркеров от известных и широко используемых в клинике маркерных белков (альфа-фетопротейн и др.) – онкоспецифичность (т.е., непосредственная, причинно-следственная, а не косвенная связь с канцерогенезом) и универсальность (нет опухолевой клетки без того или иного генетического дефекта). Поиск ДНК-маркеров опухолевого роста служит разным целям: диагностике, мониторингу (оценка эффективности лечения, своевременное обнаружение рецидивов и метастазов) и скринингу (выявление процесса на доклинической его стадии, формирование групп риска). Рассматриваются теоретические предпосылки этого направления, его перспективы и требующие решения проблемы.

*Н. Н. Мазуренко*

### МУТАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ В ДИАГНОСТИКЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

*ГУ РОИЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва*

Злокачественные новообразования являются результатом генетических и эпигенетических изменений, нарушающих регуляцию деления и дифференцировки клетки и приводящих к возникновению клеточного клона со способностью к независимой пролиферации, инвазии и метастазированию. Открыты десятки генов, мутации в которых определяют генетическую предрасположенность к различным онкологическим заболеваниям. Особое место занимают онкогены, мутации которых приводят к таким crucialным изменениям в системе передачи сигналов, что их определение является строгим и достаточным маркером диагностики и прогноза онкологического заболевания. В качестве примера будут рассмотрены результаты исследования мутаций у больных стромальными опухолями желудочно-кишечного тракта, для которых характерна корреляция между типом и локализацией мутации в генах *KIT* и *PDGFR-α* и морфологической характеристикой опухоли, ее локализацией, клиническим течением и ответом на таргетную терапию. Результаты молекулярных исследования стромальных опухолей свидетельствуют о том, что они составляют группу близкородственных новообразований. Аналогичная зависимость существует между присутствием и локализацией мутации в гене *EGFR* и гистологическими, клиническими характеристиками и результатами лечения немелкоклеточного рака легкого. Можно надеяться, что в ближайшие годы молекулярно-генетический анализ войдет в практику клинических онкологических учреждений.

*Т. А. Раевская, Л. В. Татьянаенко, С. А. Гончарова, Н. П. Коновалова*

### ОДИН ИЗ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ NO-ДОНОРОВ НА ЛЕКАРСТВЕННУЮ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ОПУХОЛЕЙ – ВЛИЯНИЕ НА ФУНКЦИЮ ТРАНСПОРТНЫХ МЕМБРАНОСВЯЗАННЫХ ФЕРМЕНТОВ

*Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка*

**Введение.** Оксид азота (NO) участвует в регуляции многочисленных процессов жизнедеятельности, имеет отношение к различным патологиям, в том числе к опухолевому росту, ангиогенезу, метастазированию, противоопухолевому иммунитету. Установлен факт участия NO в регуляции внутриклеточной концентрации ионов  $Ca^{2+}$ . Изучению взаимосвязи оксида азота и лекарственной резистентности посвящено лишь небольшое число исследований. Так, в клетках с фенотипом множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) в ряде случаев наблюдается повышенное содержание ионов  $Ca^{2+}$ . Ранее нами было показано, что доноры оксида азота в эксперименте отдают развитие лекарственной устойчивости лейкоза P388 мышей к циклофосфану, а также значительно повышают чувствительность МЛУ-опухолей к низким неэффективным дозам традиционных противоопухолевых препаратов. Мы предположили, что одной из причин наблюдаемого нами модулирующего действия доноров оксида азота на МЛУ могут являться изменения концентрации ионов кальция, связанные в том числе с функционированием транспортных мембраносвязанных ферментов, одним из которых является  $Ca^{2+}$ -зависимая  $Mg^{2+}$ -активируемая АТФаза.

**Материалы и методы.** Определение активности  $Ca^{2+}$ -АТФазы проводили на  $Ca^{2+}$ -АТФазе саркоплазматического ретикулула, выделенного из мышц кролика, а также из опухолевых клеток лейкоза P388 мышей. Исследовали гидролитическую (ГФ) и транспортную (ТФ) функции  $Ca^{2+}$ -АТФазы. В качестве донора NO использовали 3,3-бис(нитроксиметил)оксетан (NMO). ГФ фермента определяли по удельной скорости образования неорганического фосфата. Трансмембранный перенос ионов  $Ca^{2+}$  определяли по удельной скорости переноса этих ионов, активность  $Ca^{2+}$ -АТФазы – по кинетике изменения pH среды, активность фермента рассчитывали из угла наклона кинетической кривой. О скорости изменения концентрации ионов  $Ca^{2+}$  судили по времени их полного поглощения везикулами саркоплазматического ретикулула, что ведет к прекращению реакции гидролиза АТФ.

**Результаты.** Изучение влияния NMO на активный транспорт ионов кальция в мышечных клетках показало, что наблюдается торможение ТФ фермента, при этом зависимость от концентрации не выражена. NMO подавляет также гидролитическую функцию  $Ca^{2+}$ -АТФазы: при высокой концентрации NMO ( $10^{-4}$  М) происходит существенное торможение ГФ (на 33 %), а с уменьшением концентрации NMO эффект торможения снижается.

В опухолевых клетках под действием NMO также наблюдается значительное торможение транспорта ионов  $Ca^{2+}$ : на 37 % при большой концентрации NMO, а при понижении концентрации донора NO торможение ТФ  $Ca^{2+}$ -АТФазы несколько снижается.

Торможение ГФ фермента в опухолевых клетках убывает с уменьшением концентрации NMO.

**Выводы.** Полученные данные свидетельствуют о том, что в присутствии донора оксида азота NMO происходит торможение гидролиза АТФ и транспорта  $Ca^{2+}$ . Возможно, наблюдаемое влияние донора NO на функционирование  $Ca^{2+}$ -АТФазы является причиной, вызывающей изменение внутри- и внеклеточного баланса ионов кальция, что может быть одним из механизмов модулирующего действия NMO на лекарственную устойчивость опухолей.

*А. В. Смирнова, М. И. Лукашина, К. Д. Никитин, И. Н. Михайлова, Л. Ю. Арустумян, Е. В. Огородникова, Л. В. Демидов, А. Ю. Барышников*

### ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ЭКСПРЕССИИ МОЛЕКУЛ HLA I И II КЛАССОВ В АКТИВАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ.

*ГУ РОИЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва*

**Введение.** Успехи иммунологии и молекулярной биологии дают основание рассматривать иммунотерапию как один из перспективных методов лечения злокачественных новообразований. Так, в качестве одного из методов иммунотерапии меланомы были предложены вакцины на основе опухолевых клеток. Ранее в нашем центре были получены линии клеток меланомы человека, различающиеся по экспрессии на их поверхности молекул HLA I и II классов.

**Цель исследования.** Изучение потенциальной иммуногенности клеток линии меланомы кожи, различающихся по экспрессии HLA I и II классов.

**Материалы и методы.** В реакции в качестве клеток-респондеров использовали МПК здоровых доноров в количестве  $5 \times 10^6$  клеток в лунке, а в качестве клеток-стимуляторов – опухолевые клетки в количестве  $2,5 \times 10^5$ . Опухолевые клетки обрабатывали митомицином С. МПК и опухолевые клетки совместно культивировали 5 сут. Отрицательным контролем служили клетки-респондеры, культивируемые в тех же условиях без опухолевых клеток. Иммуногенность оценивалась в смешанной опухолево-лимфоцитарной реакции по изменению экспрессии поверхностных маркеров активации (CD25, CD71, CD95, HLA-DR).

**Результаты.** Было установлено достоверное увеличение уровня экспрессии маркера CD71 на МПК при культивировании с опухолевыми клетками с фенотипом HLA I+/II+ или HLA I+/II– по сравнению с контролем. CD25 достоверно увеличивался вне зависимости от экспрессии HLA-антигенов на опухолевых клетках. Имеется тенденция к увеличению экспрессии HLA-DR на клетках-респондерах, культивирующихся с линией, несущей оба класса молекул HLA.

**Выводы.** На основании полученных результатов можно предположить, что наиболее высокая иммуногенность характерна для клеточной линии меланомы с фенотипом HLA I+/II+. Для дальнейшего уточнения механизмов активации противоопухолевого ответа требуются дополнительные исследования.

*Е. В. Степанова*

### ХАРАКТЕРИСТИКА АНГИОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ОПУХОЛЕЙ ЧЕЛОВЕКА IN VIVO

*ГУ РОИЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва*

Ангиогенез – формирование новых микрососудов из уже существующих в ткани капилляров. Экспериментальные исследования *in vivo*, иммуногистохимические и биохимические исследования различных опухолей человека, проведенные в том числе и нами, неод-

нократно демонстрировали зависимость роста опухоли и метастазирования от ангиогенной активности первичного очага. Однако было обнаружено, что ангиогенез – не единственный способ кровоснабжения опухоли. В некоторых случаях опухолевые клетки способны сами, без участия эндотелиальных клеток формировать каналы, по которым течет кровь (т.н. васкулярная мимикрия). Мы наблюдали признаки васкулогенной мимикрии как в опухолях человека (меланомы кожи, саркомы мягких тканей), так и на экспериментальных моделях опухолей *in vivo* (SK-BR-3, SKOV-3 и др.).

В большинстве случаев разработка новых методов лекарственной терапии злокачественных опухолей, в том числе антиангиогенной, затруднена из-за отсутствия адекватных экспериментальных моделей для оценки эффективности препаратов направленного действия. Используемые на сегодняшний день опухолевые модели характеризуются небольшим количеством стромального компонента опухоли и существенно сниженным ангиогенезом, что затрудняет оценку эффективности препаратов, блокирующих взаимодействие опухолевых и эндотелиальных клеток.

Интерес к изучению веществ, обладающих антиангиогенной активностью, способствовал разработке новых экспериментальных моделей *in vivo*, способных разграничить противоопухолевый и антиангиогенный эффект препарата. В общем случае анализ количества CD31- и/или CD34-положительных сосудов в ткани контрольной и опытных групп поможет оценить антиангиогенный эффект тестируемого препарата в «традиционных» экспериментах по изучению *in vivo* противоопухолевой активности препарата на трансплантируемых мышам опухолям.

Использование адекватных моделей опухолей для тестирования противоопухолевой активности препаратов *in vivo* позволит эффективно оценивать вклад антиангиогенного компонента в общий механизм противоопухолевого действия препарата.

#### **Е. В. Степанова, Э. Ш. Соломко, А. Ю. Барышников ОЦЕНКА АНТИАНГИОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ**

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

Молекулярно-биологические достижения в экспериментальной онкологии позволили создать новую стратегию лечения злокачественных новообразований: антиангиогенную терапию (ААТ). Она направлена на блокирование образования новых микрососудов в опухоли, препятствуя ее дальнейшему росту и прогрессии. Одной из особенностей антиангиогенной терапии является ее цитостатический эффект. В большинстве исследований показано, что использование такой терапии приводит к задержке роста опухоли, а не к ее регрессии.

Особенности противоопухолевого действия антиангиогенной терапии потребовали развития новой методологии проведения скрининга веществ на способность блокировать ангиогенез. Среди обязательных методов скрининга *in vitro* таких веществ – изучение цитотоксического и антипролиферационного действия, влияния на миграцию и формирование капилляроподобных структур на культуре эндотелиальных клеток. Антиангиогенное действие препарата подтверждается методами *in vivo*: тесте Майлса и по блокированию ангиогенеза в имплантате Матригеля. При изучении противоопухолевой активности на трансплантированных мышам опухолям необходимо проводить анализ количества CD31- и/или CD34-положительных сосудов в ткани контрольной и опытных групп. Только комплексное изучение *in vitro* и *in vivo* позволит адекватно оценить антиангиогенный эффект препарата.

В Российском онкологическом научном центре изучается антиангиогенная активность различных фракций, выделенных из экстрактов растений. В качестве культуры эндотелиальных клеток была использована клеточная линия SVEC-4-10, полученная из эндотелиальных клеток мыши, трансформированная вирусом SV-40. Исследования позволили выделить несколько фракций растений, обладающих антиангиогенной активностью в некоторых антиангиогенных тестах.

#### **Н. М. Сураева, А. В. Самойлов, А. Ю. Барышников ТРАНСФЕКЦИЯ *IN VITRO* ГОНАДНЫХ КЛЕТОК КУР БАКТЕРИАЛЬНЫМ ГЕНОМ β-ГАЛАКТОЗИДАЗЫ**

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

В последние годы наиболее интенсивно развиваются методы трансгенеза с использованием технологии получения долгосрочной культуры половых эмбриональных клеток.

В качестве потенциальных клеток-мишеней для внедрения чужеродной ДНК в половую линию кур могут быть использованы первичные половые клетки (ППК) из гонад на 25–27 стадии развития зародыша.

С целью разработки оптимальных параметров трансфекции первичных премордиальных клеток (ППК) была получена первичная культура гонадных клеток. При плотности популяции клеток 80–50 тыс на лунку 96-луночной плашки формировалась монослой стромальных клеток в течение 3 сут, а при плотности 10–20 тыс. на лунку – в течение 10 сут.

Трансфекцию культуры гонадных клеток плазмидой с геном бактериальной β-галактозидазы проводили с помощью липофектанта UF-56 в течение 3 ч и после отмывки клеток культивировали в течение суток. Затем после окраски раствором X-gal оценивали эффективность трансфекции культуры. Самый высокий уровень трансфекции (25–30 %) наблюдался при концентрации гена 0,2–0,5 мкг на 200 мкл среды. Увеличение или уменьшение концентрации липофектанта в 2–3 раза по сравнению с предложенным фирмой-изготовителем количеством не влияло на уровень трансфекции. При культивировании клеток в течение 10 сут уровень трансфекции не снижался, и ППК сохраняли одну из основных своих характеристик – наличие гранул гликогена, которые были выявлены с помощью ШИК-реакции.

Экспрессия чужеродного гена была обнаружена после инъекции 2,5-дневным эмбрионам суспензии культивируемых трансфецированных гонадных клеток в гонадах 6-дневных химерных эмбрионов в виде окрашенных кластеров клеток.

Таким образом, была показана возможность получения химерных зародышей птицы, экспрессирующих чужеродный ген, после трансфекции культивируемых ППК из гонад кур.

М. Л. Филитенко<sup>1</sup>, А. Ф. Лазарев<sup>2</sup>, В. Д. Петрова<sup>2</sup>,  
Е. В. Пешковский<sup>1</sup>, О. В. Мишукова<sup>1</sup>, Т. В. Синкина<sup>2</sup>,  
И. А. Селезнёва<sup>2</sup>, Ю. Н. Димитриади<sup>2</sup>, Н. А. Зарубина<sup>2</sup>,  
С. А. Терехова<sup>2</sup>

#### **ОТСУТСТВИЕ АССОЦИАЦИИ МЕЖДУ ПОЛИМОРФИЗМОМ NQO1 И РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ПОПУЛЯЦИИ ЖЕНЩИН СИБИРИ**

<sup>1</sup>Новосибирский институт биоорганической химии СО РАН, Новосибирск

<sup>2</sup>Алтайский филиал ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Барнаул

**Введение.** NQO1–2-электронная хиноноксидоредуктаза – фермент 2 фазы биотрансформации ксенобiotиков. Это ФАД-связанный белок образует гомодимеры и превращает хинон в гидрохинон. Такая ферментная активность предотвращает одноэлектронное восстановление хинона, которое приводит к образованию свободных радикалов. Мутации в гене NQO1, связанные с поздней дискинезией, увеличивают риск гематотоксичности при воздействии бензола и восприимчивость к различным формам рака. Генетический полиморфизм NQO1 – это замена С (цитидина) на Т (тимидин) в основании пары 609 экзона 6, который кодирует замещение пролина серином в белке NQO1. Эта мутация приводит к потере активности NQO1. Ранее сообщалось, что дикие типы NQO1 увеличивают риск аденокарцином легкого среди мужчин-курильщиков на Тайване. Ассоциация P187S – полиморфизма с развитием рака молочной железы была обнаружена в исследованиях 2 независимых популяций (Тироль, Австрия; Прага, Чехия) (Menzel et al., 2004).

**Задача исследования.** Установить, влияет ли полиморфизм в гене NQO1 на риск развития рака молочной железы в популяции женщин Сибири.

**Материалы и методы.** Исследование проводилось методом «случай – контроль»: случай – 203 больных раком молочной железы, контроль – 182 пациентки без онкологической патологии. Генотипирование для определения полиморфизма гена NQO1 проводилось с использованием PCR-амплификации с набором праймеров 5'-ACGCTAGCTCTGAAGTATTCTCT-3' и 5'-TTTTCTCCTCATCCTGTACCTCT-3'. PCR-амплифицированные

соединения растворялись с  $\text{HnpI}$  и анализировались с помощью электрофореза на 2,5%-ном агарозном геле.

**Результаты.** У лиц с генотипом  $\text{CC}$  по сравнению с имеющими генотип  $\text{TT}$  относительный риск ( $\chi^2=0,04$ ,  $p=0,84$ ) составил 1,116 (0,376-3,311).

**Выводы.** Таким образом, полученные результаты показывают, что полиморфизм  $\text{P187S}$  в гене  $\text{NQO1}$  не влияет на риск развития рака молочной железы в популяции женщин Сибири.

*А. А. Фильченков<sup>1</sup>, М. П. Завелевич<sup>1</sup>, Л. М. Куява<sup>1</sup>, Н. М. Храмовская<sup>2</sup>*

### **АКТИВАЦИЯ КАСПАЗЫ-3 И УСИЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКА Вах БЕЗ МАССОВОЙ ИНДУКЦИИ АПОПТОЗА В КЛЕТКАХ ХРОНИЧЕСКОГО МИЕЛОЛЕЙКОЗА ПРИ ДЕЙСТВИИ КВЕРЦЕТИНА**

<sup>1</sup>*Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии НАН Украины, Киев*

<sup>2</sup>*Институт онкологии АМН Украины, Киев*

**Введение.** Среди многочисленных агентов, способных индуцировать апоптоз и/или дифференцировку клеток лейкозов, особое внимание в последнее время привлекают различные агенты природного происхождения, в том числе полифенолы. В отличие от противоопухолевых химиопрепаратов, они относительно нетоксичны в диапазоне концентраций, при которых вызывают дифференцировку или апоптоз. Внутриклеточные мишени действия этих соединений на геномном и протеомном уровнях только начинают выясняться.

**Цель исследования.** Изучение уровня экспрессии активных форм каспазы-3, -8, -9 и проапоптотического белка Вах, а также анализ апоптоза и дифференцировки в клетках линии К-562 при действии кверцетина.

**Материалы и методы.** Исследования проводили на линии К-562 перевиваемых клеток хронического миелолейкоза человека. Уровень апоптоза и распределение клеток по фазам клеточного цикла определяли с помощью проточной цитометрии клеток, окрашенных йодистым пропидием. Экспрессию исследуемых белков анализировали методом проточной цитометрии и вестерн-блоттинга с использованием соответствующих моноклональных антител. Дифференцировку клеток оценивали морфологически и по количеству бензидин-положительных клеток.

**Результаты.** Культивирование клеток К-562 с кверцетином в концентрации до 40 мкмоль/л не вызывало массового апоптоза (не выше 10%). При этом отмечалось значительное увеличение клеток в  $G_2/M$  фазе клеточного цикла (до 40%). Одновременно было отмечено 20%-ное увеличение количества бензидин-положительных клеток, начиная с 3-х суток культивирования с препаратом. При действии кверцетина отмечено появление активной формы каспазы-3, которое не сопровождалось активацией каспазы-9 или -8. При этом наблюдается значительное увеличение количества клеток, экспрессирующих Вах (на 35%).

**Выводы.** Таким образом, действие кверцетина на клетки К-562 сопровождается появлением активной формы каспазы-3 и увеличением экспрессии Вах без массовой индукции апоптоза и при отсутствии появления активных форм каспазы-9 и -8. Полученные данные указывают

на возможность модуляции полифенолами дифференцировки клеток К-562 воздействием на компоненты эффекторного звена апоптоза.

### *Е. В. Хорошева<sup>1</sup>, Г. К. Герасимова<sup>1</sup>, О. Л. Калия<sup>2</sup>* **ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ТРАНСПОРТА ТЕРАФТАЛА В ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ**

<sup>1</sup>*ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва*

<sup>2</sup>*ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва*

**Введение.** Терафтал (ТФ) (4,5-октакарбокситалоанин кобальта) синтезирован в ФГУП «ГНЦ «НИОПИК» и в настоящее время проходит 2-ю фазу клинических испытаний в составе каталитической системы ТФ+аскорбиновая кислота в качестве нового средства для лечения злокачественных опухолей. Высокая молекулярная масса (1077,4) и сложная планарная структура ТФ создают трудности для его проникновения в клетку. Ранее мы показали, что в течение первых 30 мин инкубации ТФ поверхностно связывается с плазматической мембраной опухолевых клеток, не проникая в ее липидный бислой. Через 2–3 ч инкубации ТФ обнаруживается внутри клеток в основном во фракции лизосом и пероксисом. Мы предположили, что ТФ после связывания с мембраной транспортируется внутрь клетки в мембранном пузырьке, так как известно, что транспорт крупных молекул внутрь клетки происходит посредством эндоцитоза.

**Цель исследования.** Установление механизма транспорта ТФ в опухолевые клетки.

**Материалы и методы.** В работе использовали культуру опухолевых клеток эритролейкоза человека К562. Процесс поступления ТФ в клетку изучали с использованием гидрофобного флюоресцентного зонда ТМА- $\text{DPH}$  ( $2 \times 10^{-6}$  М) – маркера поверхности плазматической мембраны в живых клетках. При эндоцитозе площадь поверхностной мембраны уменьшается, что приводит к снижению интенсивности флюоресценции ( $I_f$ ) зонда. Кинетику процесса оценивали по изменению  $I_f$  на протяжении 3,5 ч инкубации клеток с ТФ ( $10^{-8}$ – $10^{-6}$  М). Измерение  $I_f$  проводили на спектрофлуориметре Hitachi F4010 при  $E_x=350$  nm и  $E_m=430$  nm. Коэффициент поляризации зонда вычисляли для  $\lambda_{\text{max}}=430$  nm.

**Результаты.** Установлено, что значение коэффициента поляризации зонда в процессе инкубации клеток с препаратом ТФ не меняется, т.е. ТФ не встраивается в липидный бислой плазматической мембраны и не влияет на микроокружение зонда. В то же время в процессе инкубации с ТФ отмечается постепенное падение  $I_f$  зонда, что свидетельствует об уменьшении площади клеточной мембраны, характерное для процесса эндоцитоза. В контрольных пробах (без ТФ)  $I_f$  не уменьшается. При концентрации ТФ  $10^{-8}$  М падение  $I_f$  происходит в 2 раза интенсивнее, чем при более высокой концентрации препарата ( $10^{-6}$  М): на 40 % и 20 % соответственно.

**Выводы.** Снижение  $I_f$  встроившегося в клеточную мембрану зонда при введении ТФ в среду инкубации опухолевых клеток свидетельствует о том, поступление ТФ в клетку происходит путем эндоцитоза, и при низкой концентрации ТФ ( $10^{-8}$  М) этот процесс происходит более интенсивно.

*Работа выполнена в рамках НТП «Разработка и практическое освоение в здравоохранении новых методов и средств профилактики, диагностики и лечения онкологических, инфекционных и других опасных заболеваний» 2004-2006 гг.*

# ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ

А. З. Альмяшев

## АУТОФЛЮОРЕСЦЕНЦИЯ В МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ ОПУХОЛЯХ ПРЯМОЙ КИШКИ

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

**Задачи исследования.** Изучить диагностическую селективность накопления эндогенных флюорохромов (ЭФ) к опухоли, воспалительному процессу и внешне неизменным тканям прямой кишки *in vivo* (эндоскопически) и *ex vivo* – лазерно-спектроскопическое экспресс-исследование удаленного макропрепарата.

**Материалы и методы.** Использован клинический диагностический комплекс для флюоресцентной диагностики и фотодинамической терапии рака ДТК-3М (ЦЕНИ ИОФ им. А. М. Прохорова РАН, Москва). Аутофлюоресценция (АФ) биотканей связана с молекулами дыхательной цепи окислительного фосфорилирования, флавинами, эндогенными порфиринами, ароматическими аминокислотами (тирозин, триптофан, фенилаланин), экстрацеллюлярными эластином и коллагеном. Реальные спектральные характеристики обусловлены и АФ депозитов перекисного окисления липидов, продуктов некроза, количества кровеносных сосудов, гемоглобина и пигмента.

**Результаты.** АФ изучили у 2 больных с неэпителиальными опухолями прямой кишки (лейомиосаркома и злокачественная неходжкинская лимфома): в одном случае *ex vivo*, в другом – *in vivo*. Контроль: 7 пациентов без патологии в прямой кишке, с воспалительными заболеваниями (1) и колоректальным раком (9). АФ здоровой слизистой прямой кишки составила  $6,33 \pm 0,606$  отн. ед., коэффициент диагностической контрастности (КДК) (к слизистой нижней губы) – 0,71, при язвенном ректите – 5,081 и 0,77, при ворсинчатой аденоме – 4,89 и 0,63, при раке – 15,9 и 0,76 соответственно.

**Выводы.** 1. Диагностическая ценность эндоскопической лазерно-индуцированной АФ (ЭЛИАФ) при раке прямой кишки мала ввиду низкой концентрации ЭФ в опухолевой ткани (прежде всего протопорфирина IX и его дериватов). 2. Неэпителиальные опухоли прямой кишки склонны к повышенной АФ в красной области спектра: спектральные кривые имеют характерную форму, лазерный пик находится на 684 нм, интенсивность АФ –  $31,765 \pm 5,944$ , КДК –  $5,6 \pm 0,729$  ( $p < 0,001$ ). 3. ЭЛИАФ-диагностика мезенхимальных опухолей ЖКТ требует дальнейшего изучения.

Н. В. Балацкая<sup>1</sup>, М. В. Будзинская<sup>2</sup>, Л. Б. Краснова<sup>1</sup>,  
И. А. Гандурина<sup>1</sup>, Н. А. Гольдина<sup>1</sup>, К. А. Парсункова<sup>1</sup>,  
С. Г. Кузьмин<sup>1</sup>, Г. Н. Ворожцов<sup>1</sup>

## СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА, СПЕКТРА ЦИТОКИНОВ И ФАКТОРОВ РОСТА ПРИ ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРЕПАРАТОМ ФОТОСЕНС У БОЛЬНЫХ С СУБРЕТИНАЛЬНОЙ НЕОВАСКУЛЯРНОЙ МЕМБРАНОЙ

<sup>1</sup>ГУП «МНКЦ «Интермедбиофизхим», Москва

<sup>2</sup>НИИ глазных болезней РАМН, Москва

**Введение.** Полагают, что одним из пусковых механизмов развития субретинальной неоваскулярной мембраны (СНМ) является окислительный стресс: нарушение в системе антиоксидантной защиты, активация процессов перекисного окисления липидов, индукция иммунных реакций и как следствие – экспрессия провоспалительных цитокинов и факторов роста. Разрабатываются новые методы воздействия на процессы неангиогенеза при СНМ, такие, как фотодинамическая терапия (ФДТ), в основе которой лежит индукция реакций свободно-радикального окисления, ведущих к фотодинамической окклюзии новообразованных сосудов с сохранением окружающих тканей (сетчатка, пигментный эпителий, хориокапилляры).

**Цель исследования.** Изучение динамики комплекса биохимических параметров системы прооксиданты-антиоксиданты и провоспалительных цитокинов в процессе ФДТ СНМ с препаратом фотосенс.

**Материалы и методы.** Объектом исследования явились образцы сыворотки периферической крови 31 пациента с СНМ на фоне возрастной макулярной дегенерации и миопии высокой степени. 1-я группа больных (n=13) – с высоким уровнем POL (Peroxidation of lipids), 2-я (n=19) – уровень POL практически не отличался от нормы, 11 здоровых лиц составили 3-ю контрольную группу. Оценивалось воздействие 1-го сеанса ФДТ. Изучались показатели: TAS (Total Antioxidant Status) на биохимическом анализаторе DAYTONA (Ирландия), POL на спектрофотометре SESILE (Япония), TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 – основных провоспалительных цитокинов системного действия методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) диагностическими тест-системами «Bender MedSystems» (Австрия) и «Bio-source» на спектрофотометре Stat Fax-2100 (США).

**Результаты.** Исследования показали, что уровни IL-6, IL-8 у пациентов до начала лечения находились в пределах значений этих показателей у здоровых лиц. У всех пациентов до начала наблюдаются низкие значения TAS ( $1,061 \pm 0,15$  mmol/L  $p < 0,05$  по отношению к контролю), а у пациентов 2-й группы высокий уровень POL ( $5,35 \pm 3,93$   $\mu$ mol/L), т.е. наблюдается дисбаланс в системе антиоксиданты-прооксиданты.

Уровень TNF- $\alpha$  в 1-й и 2-й группах значительно выше нормы. После действия 1-го сеанса ФДТ у пациентов 1-й группы отмечено повышение экспрессии TNF- $\alpha$ , а во 2-й группе значение этого показателя остается на прежнем уровне. Уровень TAS изменяется разнонаправлено: в 1-й группе имеет тенденцию к дальнейшему снижению, во 2-й у 50 % повышается, и у 50 % снижается.

**Выводы.** Изученный комплекс биохимических параметров может использоваться для оценки действия ФДТ в офтальмологии. Действие 1-го сеанса ФДТ носит провоспалительный характер. Полученные данные свидетельствуют о необходимости внесения коррекции ФДТ препаратами антиоксидантного спектра.

Авторы выражают глубокую признательность Правительству г. Москвы за финансовую поддержку работы в рамках городской научно-технической программы.

Ю. А. Белый<sup>1</sup>, А. В. Терещенко<sup>1</sup>, М. А. Каплан<sup>2</sup>,  
П. Л. Володин<sup>1</sup>

## ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ХОРИОИДАЛЬНОЙ НЕОВАСКУЛЯРИЗАЦИИ С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОМ ХЛОРИНОВОГО РЯДА

<sup>1</sup>Калужский филиал ФГУ МНТК «Микрохирургия глаза»

им. акад. С. Н. Федорова Росздрава

<sup>2</sup>ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск

**Цель исследования.** Оценка клинической эффективности фотодинамической терапии (ФДТ) хориоидальной неоваскуляризации (ХНВ) с фотосенсибилизатором (ФС) хлоринового ряда – препаратом фотолон.

**Материалы и методы.** Под наблюдением находился 21 пациент (24 глаза) в возрасте от 23 до 84 лет. Из них у 8 (8 глаз) ХНВ являлась следствием высокой осложненной миопии, у 12 (15 глаз) – возрастной макулярной дегенерации и в 1 случае – болезни Беста.

ФДТ проводилась на офтальмологической установке «АЛОД-01» ( $\lambda = 660$  нм), оснащенной приставкой для транспупиллярной ФДТ (ПФК-«АЛОД-02» «Алком@Медика», СПб). В качестве ФС применялся препарат фотолон, производства РУП «Белмедпрепараты» (г. Минск, Беларусь) в дозе 1 мг/кг веса. Параметры лазерного облучения: плотность энергии – 25 Дж/см<sup>2</sup>, диаметр пятна – 2–3 мм.

**Результаты.** Через 3 мес после ФДТ острота зрения (ОЗ) осталась неизменной на 6 глазах и повысилась на 18 (в среднем по группе на  $0,18 \pm 0,12$ ). Улучшение зрительных функций сопровождалось положительной динамикой клинической картины: резорбцией периферического отека сетчатки и геморагий.

По данным оптической когерентной томографии к 3 мес толщина сетчатки в фовеальной области уменьшилась (в среднем по группе на  $46,0 \pm 13,2$  мкм).

В те же сроки на флюоресцентных ангиограммах глазного дна наблюдалось значительное уменьшение интенсивности экстравазальной флюоресценции, исходная архитектоника неоваскулярной мембраны не определялась, что свидетельствовало о стабилизации патологического процесса. В сроки наблюдения до 1 года рецидива ХНВ ни в одном случае не наблюдалось.

**Выводы.** Получены 1-е клинические результаты, свидетельствующие об эффективности ФДТ с препаратом фотолон в лечении хориоидальной неоваскуляризации различного генеза.

Ю. А. Белый<sup>1</sup>, А. В. Терещенко<sup>1</sup>, М. А. Каплан<sup>2</sup>,  
П. Л. Володин<sup>1</sup>

### ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ НА ЭТАПЕ ЛАЗЕРНО-ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ВТОРИЧНОЙ НЕОВАСКУЛЯРНОЙ ГЛАУКОМЫ

<sup>1</sup>Калужский филиал ФГУ МНТК «Микрохирургия глаза»

им. акад. С. Н. Федорова Росздрав

<sup>2</sup>ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск

**Цель исследования.** Оценка клинической эффективности фотодинамической терапии (ФДТ) с препаратом фотолон в комбинированном лазерно-хирургическом лечении вторичной неоваскулярной глаукомы (НВГ).

**Материалы и методы.** Под наблюдением находились 9 пациентов (10 глаз) с вторичной НВГ, развившейся как осложнение тромбоза центральной вены сетчатки (5 глаз 5 пациентов) и пролиферативной диабетической ретинопатии (5 глаз 4 пациентов). Острота зрения во всех случаях была исходно низкой (от светоощущения с неправильной светопроекцией до 0,1).

Внутриглазное давление (ВГД) было не компенсировано и составляло в среднем  $38 \pm 2$  мм рт. ст. При биомикроскопии во всех случаях определялась выраженная неоваскуляризация радужки с поражением как зрачковой, так и цилиарной зоны, а также угла передней камеры.

Всем больным за 10 дней до антиглаукоматозной операции (лазерной задней циклостомии) выполнялась ФДТ переднего отрезка глаза. Для этого использовалась офтальмологическая лазерная установка «АЛОД-01» ( $\lambda=660$ нм) «Алком®Медика» (СПб). В качестве ФС применялся препарат хлоринового ряда фотолон в дозе 1 мг/кг.

Лазерное облучение зон неоваскуляризации радужной оболочки проводили с использованием роговичной контактной линзы Гольдмана последовательно полями диаметром 3 мм с плотностью энергии 75 Дж/см<sup>2</sup> в расчете на 1 поле облучения. Оптимальные временные интервалы облучения от начала введения препарата (5–15 мин) были определены в ходе предварительно проведенной флюоресцентной диагностики с препаратом фотолон.

**Результаты.** В результате ФДТ во всех случаях биомикроскопически наблюдалась сначала фрагментация, а затем запустевание с последующей редукцией новообразованных сосудов радужки в сроки от 7 до 10 дней после ФДТ, что обеспечивало более оптимальные условия для ангиолаукоматозной операции. Примечателен факт снижения ВГД после ФДТ (в среднем на  $4,2 \pm 0,4$  мм рт. ст.) при неизменных зрительных функциях.

Осложнений в ходе операции и раннем послеоперационном периоде отмечено не было. Компенсация ВГД через 1 нед после операции была достигнута во всех случаях (в среднем по группе  $23 \pm 3,2$  мм рт. ст.).

**Выводы.** ФДТ в лечении вторичной неоваскулярной глаукомы позволяет избежать тяжелых геморрагических осложнений при хирургическом этапе лечения и добиться лучших анатомических и функциональных результатов.

Ю. А. Белый<sup>1</sup>, А. В. Терещенко<sup>1</sup>, М. А. Каплан<sup>2</sup>,  
П. Л. Володин<sup>1</sup>, Т. Н. Пункова<sup>2</sup>

### ПЕРВЫЙ ОПЫТ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ ВАСКУЛЯРИЗОВАННЫХ БЕЛЬМ РОГОВИЦЫ

<sup>1</sup>Калужский филиал ФГУ МНТК «Микрохирургия глаза»

им. акад. С. Н. Федорова Росздрав

<sup>2</sup>ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск

**Цель исследования.** Оценка клинической эффективности метода фотодинамической терапии (ФДТ) с препаратом фотолон в лечении васкуляризованных бельм роговицы как предварительного этапа перед сквозной пересадкой роговицы.

**Материалы и методы.** Под наблюдением находилось 7 пациентов (7 глаз) с субтотальными васкуляризованными бельмами роговицы (в 3 случаях – как исход герпетического кератита и в 4 – как последствия химического ожога роговицы). Острота зрения во всех случаях была низкой (от светоощущения с правильной светопроекцией до 0,05).

В работе использовалась лазерная офтальмологическая установка «АЛОД-01» «Алком®Медика» (СПб) для ФДТ и флюоресцентной диагностики (ФД). В качестве фотосенсибилизатора (ФС) применялся ФС хлоринового ряда – препарат фотолон, который вводился в/в в дозе 1 мг/кг веса. Лазерное облучение начинали по достижении максимального накопления ФС в сосудах роговицы, определяемого при ФД (через 5–15 мин от начала введения препарата). Лазерное облучение осуществляли последовательно, полями диаметром 3 мм с плотностью энергии 50 Дж/см<sup>2</sup> в расчете на 1 поле облучения.

Результаты лечения оценивали методами биомикроскопии переднего отрезка глаза, цифровой фоторегистрации и флюоресцентной ангиографии.

**Результаты.** На флюоресцентных ангиограммах переднего отрезка до лечения наблюдалась выраженная экстравазальная флюоресценция новообразованных сосудов роговицы с интенсивным «прокрашиванием» прилежащей стромы роговицы, что свидетельствовало об активной стадии неоваскулярного процесса.

На следующие сут после ФДТ отмечалась резко выраженная неравномерность калибра новообразованных сосудов роговицы с наличием аневризматических расширений и участков фрагментации сосудов и мелкими геморрагиями в строму роговицы. В течение последующих 2 нед наблюдения отмечали рассасывание кровоизлияний и постепенную редукцию новообразованных сосудов роговицы. Через 2 нед после ФДТ во всех случаях сосуды биомикроскопически практически не выявлялись и на флюоресцентных ангиограммах не контрастировались.

**Выводы.** Фотодинамическая терапия с фотосенсибилизатором фотолон как предварительный этап перед кератопластикой у пациентов с васкуляризованными бельмами роговицы может существенно улучшить анатомические и функциональные результаты хирургического лечения.

Ю. А. Белый<sup>1</sup>, А. В. Терещенко<sup>1</sup>, М. А. Каплан<sup>2</sup>,  
П. Л. Володин<sup>1</sup>, В. В. Тецин<sup>3</sup>

### ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ «МАЛЫХ» МЕЛАНОМ СОСУДИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ГЛАЗА

<sup>1</sup>Калужский филиал ФГУ МНТК «Микрохирургия глаза»

им. акад. С. Н. Федорова Росздрав

<sup>2</sup>ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск

<sup>3</sup>Калужская областная больница

**Цель работы.** Оценка эффективности метода фотодинамической терапии с препаратом фотолон в лечении меланом сосудистой оболочки глаза (хориоидеи) малого размера.

**Материалы и методы.** Под наблюдением находились 12 пациентов (12 глаз) с меланомами хориоидеи (МХ) центральной локализации (задний полюс глаза). Размеры опухолей по данным ультразвукового исследования в режиме серошкальной визуализации не превышали следующих значений: диаметр основания –  $10 \times 8$  мм, высота – не более 3 мм, что соответствовало малым меланомам по классификации Shields J. (1983) (T<sub>1</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>).

Для ФДТ использовался лазерный аппарат «АЛОД-01» ( $\lambda=662$ нм) «Алком® Медика» (СПб). В качестве ФС применялся препарат фотолон в дозе 1–1,5 мг/кг. Рассчитанную дозу препарата вводили дробно: за 2 ч (70 % дозы ФС) и за 15 мин (30 % дозы) до транспиллярной ФДТ. Продолжительность каждой инфузии составляла 15 мин. Одновременно с введением 1-й дозы препарата в кубитальную вену другой руки осуществляли внутривенное лазерное облучение крови ( $\lambda=662$ нм) в дозе облучения 300 Дж/см<sup>2</sup> (системная ФДТ).

Транспиллярное лазерное облучение проводили последовательно полями, с захватом здоровых тканей в пределах 0,5 мм от границы опухоли, с перекрытием соседних полей на 10–15 % пло-

щадя, плотностью энергии – 50 Дж/см<sup>2</sup> на одно поле. Общее количество полей – до 12.

Результаты лечения оценивали методами офтальмоскопии, флюоресцентной ангиографии (ФАГ), ультразвукового В-сканирования и доплерографии в режимах ЦДК и ЭДК

**Результаты.** Во всех случаях в сроки наблюдения от 3 до 6 мес происходил полный регресс новообразования, что подтверждалось данными офтальмоскопии, ФАГ и В-сканирования. Через 6 мес на глазном дне на месте опухоли формировался практически плоский с неоднородной пигментацией хориоретинальный очаг с остаточной проминенцией менее 1,2 мм. По данным ЦДК отмечалось отсутствие внутриопухолевого кровотока, соответственно локализации облученной МХ определялся остаточный аваскулярный очаг.

В отдаленный период наблюдения – до 2 лет – признаков рецидива новообразования ни в одном случае выявлено не было.

**Выводы.** Получен 1-й клинический опыт эффективного применения ФДТ с фотосенсибилизатором фотолон как самостоятельного метода лечения пациентов с меланомами сосудистой оболочки глаза малого размера.

Необходимы дальнейшие исследования для объективной оценки эффективности данного метода лечения на большем клиническом материале и в отдаленные сроки наблюдения.

*Ю. А. Бельй<sup>1</sup>, А. В. Терещенко<sup>1</sup>, М. А. Каплан<sup>2</sup>,  
П. Л. Володин<sup>1</sup>, Т. Н. Пупкова<sup>2</sup>*

### ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ИНДУЦИРОВАННОЙ НЕОВАСКУЛЯРИЗАЦИИ РОГОВИЦЫ С ПРЕПАРАТОМ ФОТОДИТАЗИН

<sup>1</sup>Калужский филиал ФГУ МНТК «Микрохирургия глаза»  
им. акад. С. Н. Федорова Росздрава

<sup>2</sup>ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск

**Цель исследования.** Оценка эффективности фотодинамической терапии (ФДТ) с препаратом фотодитазин на экспериментальной модели неоваскуляризации роговицы.

**Материалы и методы.** Экспериментальное моделирование неоваскуляризации роговицы проводили на 20 кроликах (40 глаз) породы шиншилла. Использовалась комбинированная методика, включающая интрастромальное наложение роговичных швов (шелк 5,00) с тушированием роговицы 10%-ным раствором едкого натра (экспозиция 20 с). Через 3 нед роговичные швы удаляли. На 2-е сут после снятия швов на правых глазах кроликов проводили ФДТ. Парные глаза являлись контрольными.

В качестве фотосенсибилизатора (ФС) применялся фотодитазин (бис-N-метилглюкаминная соль хлорина е6) (ООО «БЕТА-ГРАНД»).

ФДТ проводилась под контролем флюоресцентной диагностики (ФД) в режиме реального времени на офтальмологической лазерной установке «АЛОД-01» «Алком-Медика» (СПб) ( $\lambda$  – 662 нм). Фотодитазин вводился в/в в дозе до 1 мг/кг. Лазерное облучение осуществляли последовательно полями диаметром 3 мм, время окончания облучения определялось по достижении полного угасания флюоресценции ФС в новообразованных сосудах роговицы. Плотность экспозиционной дозы излучения составляла от 50 до 150 Дж/см<sup>2</sup>.

**Результаты.** На следующие сутки после ФДТ на всех опытных глазах отмечалось резкое сужение и неравномерность калибра новообразованных сосудов роговицы с наличием участков фрагментации сосудов. В дальнейшем в сроки 1–3 нед после ФДТ происходила постепенная редукция новообразованных сосудов.

Через 1 мес после ФДТ с фотодитазин (с плотностью энергии 100 Дж/см<sup>2</sup> и выше) биомикроскопически определялась полная облитерация неоваскулярной сосудистой сети, подтвержденная гистоморфологически.

**Выводы.** Полученные результаты свидетельствуют об эффективности фотодинамической терапии с препаратом фотодитазин на экспериментальной модели неоваскуляризации роговицы у кроликов.

*Ю. А. Бельй<sup>1</sup>, А. В. Терещенко<sup>1</sup>, П. Л. Володин<sup>1</sup>,  
М. А. Каплан<sup>2</sup>, Ю. А. Юдина<sup>1</sup>*

### ОПЫТ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ РЕЦИДИВИРУЮЩЕГО ПТЕРИГИУМА

<sup>1</sup>Калужский филиал ФГУ МНТК «Микрохирургия глаза»  
им. акад. С. Н. Федорова Росздрава

<sup>2</sup>ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск

**Цель исследования.** Оценка эффективности метода фотодинамической терапии (ФДТ) с препаратом фотодитазин в хирургическом лечении рецидивирующего птеригиума.

**Материалы и методы.** Под наблюдением находилось 5 пациентов (5 глаз) с рецидивирующим птеригиумом II степени (ранее оперированы от 2 до 4 раз).

Для ФДТ использовалась лазерная установка «АЛОД-01» «Алком@Медика» (СПб) ( $\lambda$  – 662 нм). В качестве фотосенсибилизатора (ФС) применялся ФС хлоринового ряда – препарат фотодитазин (ООО «БЕТА-ГРАНД») в виде 0,1%-ного геля.

После отделения птеригиума на образовавшееся роговичное ложе наносили 0,1%-ный гель препарата и выдерживали в течение 10–15 мин. После удаления геля проводили лазерное облучение роговицы полями диаметром 3 мм с плотностью энергии 80 Дж/см<sup>2</sup>. Затем надрезали конъюнктиву и отсепааровывали ее до нижнего свода, головку птеригиума прошивали П-образным швом 2 иглами и подворачивали в сформированный конъюнктивальный карман; швы выводили на слезистую и фиксировали.

**Результаты.** Послеоперационный период во всех случаях протекал без осложнений. Эпителизация роговичного ложа заканчивалась на 2–3-й день. Симптомы раздражения конъюнктивы купировались в сроки до 2–3 нед. Случаев грубого рубцевания и образования стойкого помутнения роговицы отмечено не было.

Результаты прослежены в отдаленном периоде в сроки до 2 лет. Рецидивов птеригиума не наблюдалось.

**Выводы.** Фотодинамическая терапия с фотосенсибилизатором фотодитазин в ходе хирургического лечения птеригиума обеспечивает эффективную профилактику рецидива заболевания.

*О. В. Боргуль, М. А. Каплан, В. Н. Катинус,  
В. П. Мардынская, А. И. Малыгина, Р. Г. Никитина,  
Н. В. Бурмистрова*

### ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ В ЛЕЧЕНИИ ДИССЕМИНИРОВАННОЙ МЕЛАНОМЫ КОЖИ

ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск

**Введение.** В настоящее время остается не решенной проблема лечения диссеминированных форм меланомы кожи, что является предпосылкой для продолжения научных исследований в этой области.

**Задачи исследования.** Разработка экспериментальных и клинических методов фотодинамической терапии (ФДТ) внутрикожных и подкожных метастазов при диссеминированных формах меланомы кожи.

**Материалы и методы.** Экспериментальная работа выполнена на 135 мышках с перевитой опухолью меланомы В16. ФДТ проводилась с фотосенсибилизаторами (ФС) фотосенс и фотолон. Изучалась динамика роста опухоли в зависимости от плотности энергии лазерного излучения и плотности мощности в пределах терапевтического интервала фотосенсибилизатора (150–300 Дж/см<sup>2</sup>, 0,12–0,38 Вт/см<sup>2</sup>).

На основании полученных экспериментальных данных в клинике была разработана методика ФДТ и проведено лечение внутрикожных и подкожных метастазов у 45 больных диссеминированной формой меланомы кожи (80 опухолевых очагов). Пациентам через 3 ч после введения ФС фотолон проводилось контактное облучение по периферии опухолевого образования с целью блокирования окружающих сосудов, питающих метастатический очаг. Через сутки дополнительно вводились ФС интратуморально в дозе 0,1–0,3 мл и облучалась центральная часть образования.

**Результаты.** В эксперименте ФДТ меланомы В16 с использованием ФС фотолон и фотосенс в пределах терапевтической дозы вне зависимости от плотности энергии и плотности мощности лазерного излучения (в пределах используемых режимов) приводит к снижению скорости прироста опухоли по сравнению с контролем на всех сроках наблюдения.

Через 1–2 мес после ФДТ по разработанной методике на 80 опухолевых очагах у пациентов с внутрикожными метастазами меланомы (59 очагов) полная регрессия (ПР) была достигнута в 7 (11,5 %) наблюдениях, частичная регрессия (ЧР) – в 33 (54,1 %). Таким образом, частота объективных ответов (ПР+ЧР) составила 65,6 %. Стаби-

лизация (Ст) длительностью более 6–8 нед зарегистрирована еще в 13 (21,3 %) очагах. Таким образом, лечебный эффект (ПР+ЧР+Ст) был достигнут в 86,9 % наблюдений. Лечение подкожных метастазов меланомы (21 очаг) в исследуемой группе привело к следующим результатам: полная регрессия – 0 %, частичная регрессия – 41,7 %, стабилизация – 50,0 % и в 8,3 % – прогрессирование. При этом объективный ответ был получен в 41,7 %, лечебный – в 91,7 %.

**Выводы.** Результаты проведенных исследований дают основание для применения методов ФДТ в лечении диссеминированной меланомы.

*Н. Н. Булгакова<sup>1</sup>, Д. М. Ягудаев<sup>2</sup>, А. Е. Сорокатый<sup>3</sup>  
А. В. Гейниц<sup>3</sup>*

### ИЗУЧЕНИЕ НАКОПЛЕНИЯ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ФОТОДИТАЗИН В ОПУХОЛЯХ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

<sup>1</sup>Институт общей физики РАН, Москва

<sup>2</sup>Городская клиническая больница № 51, Москва

<sup>3</sup>ФГУ «Государственный научный центр лазерной медицины»  
Росздрава

**Введение.** В последние десятилетия в онкоурологии активно исследуются возможности применения экзогенных и эндогенных фотосенсибилизаторов (ФС) для фотодинамической диагностики (ФДД) и терапии (ФДТ) рака мочевого пузыря (РМП). Наиболее широко для этих целей применяются ФС из класса порфиринов. В то же время перспективными для указанных целей могут быть препараты на основе хлоринов, которые являются эффективными ФС, имеют сильное поглощение в красной области и полностью выводятся из организма в течение 3–4 сут. К таким препаратам относится препарат фотодитазин.

**Цель исследования.** Изучение накопления ФС фотодитазин в опухолевых и нормальных тканях мочевого пузыря (МП) человека.

**Материалы и методы.** Фотодитазин (ООО «Вета-Гранд», Москва) – производное хлорина еб. В исследуемую группу входило 7 пациентов с морфологически подтвержденным переходо-клеточным РМП. Размер опухолевых поражений достигал 0,5–2,5 см в диаметре. Флюоресцентное исследование слизистой МП проводили методом локальной флюоресцентной спектроскопии (ЛФС) до и через 2–6 ч после внутривенного введения фотодитазина в дозе 1 мг/кг в.т. перед сеансом ФДТ и после его проведения.

**Результаты.** Показано, что через 2–3 ч после внутривенного введения фотодитазина его экзогенная флюоресценция детектируется *in vivo* только в очагах РМП и не детектируется в здоровой слизистой МП. Флюоресцентный контраст опухолевых поражений на фоне здоровой слизистой МП у всех пациентов в данные сроки после введения достоверно был больше 1, в среднем его величина составляла 5 (максимум 10). Полученные результаты свидетельствуют об избирательном накоплении фотодитазина в опухолях МП и о возможности его применения для флюоресцентной диагностики РМП.

Показано также, что применение ЛФС для мониторинга выгорания (фотобликинга) фотодитазина в ходе проведения сеанса лечения эффективно для планирования тактики проведения ФДТ, а именно для оптимизации длительности и дозы светового воздействия.

*В. П. Бусыгин<sup>1</sup>, А. В. Иванов<sup>2</sup>, М. Ю. Ипатов<sup>1</sup>,  
В. Н. Приставко<sup>1</sup>, А. П. Рогачев<sup>1</sup>, С. В. Рыков<sup>2</sup>,  
И. А. Старостина<sup>1</sup>, М. В. Щиплецов<sup>1</sup>*

### АВТОМАТИЗИРОВАННЫЙ КОМПЛЕКС ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ФОТОЦИТОТОКСИЧНОСТИ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт импульсной техники,  
Москва

<sup>2</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

Одно из основных требований, предъявляемых к фотосенсибилизаторам (ФС) для применения в клинике, – их высокая фотоцитотоксичность и возможно более высокая фотоустойчивость. Поэтому при создании новых ФС-препаратов исследование их фототоксичности и фотохимической устойчивости является важным и необходимым этапом предклинического изучения. Исследовательская работа по определению фотодинамической активности препаратов состоит из нескольких этапов, и на стадии облучения клеточных культур экспери-

мент требует присутствия человека на рабочем месте, что «связывает руки» исследователю на несколько часов. Автоматизация процесса облучения дает возможность автоматически проводить эту часть исследования, не требуя присутствия оператора.

Для изучения фотоцитотоксического эффекта ФС тест выполняется в 96-луночных планшетах с той особенностью, что клетки засеваются тетраплетами по 4 лунки на 1 образец с промежутком в 1 ряд для того, чтобы при облучении лазером избежать влияния рассеянного на пластике излучения на соседние образцы. Последний боковой ряд лунок (8 шт.) используется для контроля. Облучение проводится снизу.

Комплекс состоит из 3 основных звеньев: управляющего (компьютер Р II и выше), связующего (аналого-цифровой преобразователь РС1-1720) и исполнительного. Исполнительная часть комплекса строится на базе 2-координатного графопостроителя Н307/1. К его корпусу крепится пластина, выполняющая роль предметного столика, на котором проводится облучение. В центре пластины вырезается квадратная диафрагма размером 15×15 мм для облучения одного тетраплета. К механизму перемещения XY графопостроителя крепится рама, внутренний размер которой совпадает с размером планшета. Планшет с рассеянной в лунки культурой клеток (12 тетраплетов) располагается на пластине и фиксируется рамой. Рассеянная квадратными пластинами культурой клеток последовательно надвигается на диафрагму, где происходит световая экспозиция культуры клеток с заданной экспозиционной дозой. Параметры перемещения планшета (время простоя на месте, скорость, траекторию движения) задает исследователь на дисплее ЭВМ, для чего разработано специальное программное обеспечение. Для облучения могут использоваться различные источники излучения в полосе поглощения изучаемых ФС. Доза контролируется измерителем мощности.

Комплекс предназначен для упрощения и ускорения исследовательской работы по изучению фотоцитотоксичности новых субстанций и лекарственных форм препаратов для фотодинамической терапии и люминесцентной диагностики и позволяет исследователю высвободить до 50 % времени, затрачиваемого на опыт.

*Н. Е. Васильев*

### УСИЛЕНИЕ ПРОТИВОПУХОЛЕВОГО ЭФФЕКТА ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ХЛОРИНОМ СИСТЕМНЫМ ВВЕДЕНИЕМ ГРАНУЛОЦИТАРНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА. ПЕРВЫЕ КЛИНИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

*Сибирский центр лазерной медицины, Новосибирск*

**Введение.** Компонентами противоопухолевого действия ФДТ являются воспаление и деструкция опухоли и формирование специфического противоопухолевого иммунитета. Ответ опухоли на ФДТ может быть усилен применением некоторых цитокинов. При клиническом применении ФДТ эти эффекты могут быть оценены как быстрая реакция опухоли (через 4 мес) и отдаленная реакция (через 1 год).

**Материалы и методы.** Группа пациентов с аденокарциномой легкого в стадии T<sub>2</sub>N<sub>1</sub>M<sub>0</sub> получали лечение методом ФДТ (внутривенное введение фотосенсибилизатора хлоринового ряда радахлорин, производство «Рада-Фарма», Москва) в дозе 0,5 мг/кг и через 3 ч лазерное воздействие на область опухоли ( $\lambda=660$  нм, экспозиция 300 Дж/см<sup>2</sup>).

Исследуемая группа пациентов получала за 24–48 ч до процедуры ФДТ 1 или 2 в/м инъекции Г-КСФ. Все пациенты наблюдались в течение 1 года. Проводились рентгенологические, эндоскопические, цитологические исследования.

**Результаты.** В основной группе пациентов (ФДТ + Г-КСФ) полный эффект получен в 30 %, неполный в 60 %, частичный в 10 % случаев. В контрольной группе (только ФДТ) – 0 %, 70 % и 30 % соответственно. Через 1 год наблюдения прогрессирование опухоли обнаружено в основной группе пациентов (ФДТ+ Г-КСФ) в 50 %, в контрольной (только ФДТ) – в 90 % случаев. Интересно, что во всех группах пациентов замеченное начало прогрессирования опухоли в среднем составило 6,6 и 6,2 мес.

**Выводы.** Результаты показывают, что использование Г-КСФ позволяет значительно повысить эффективность ФДТ аденокарциномы легкого.

*В. Н. Волгин, Т. В. Соколова, М. В. Садовская,  
Е. В. Передельская*  
**ПРИМЕНЕНИЕ АППЛИКАЦИОННОЙ ФОРМЫ  
ФОТОДИТАЗИНА  
ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ  
БАЗАЛЬНОКЛЕТОЧНОГО РАКА КОЖИ  
И КЕРАТОМ**

*Главный военный клинический госпиталь им. акад. Н. Н. Бурденко,  
Москва*

**Введение.** Проблема лечения базальноклеточного рака кожи (БКРК) актуальна 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. Актуальна также проблема лечения кератом как предраковых состояний кожи.

**Задачи исследования.** Разработка оптимальных режимов фотодинамической терапии (ФДТ) БКРК и кератом с аппликационной формой фотосенсибилизатора фотодитазина.

**Материалы и методы.** В Главном военном клиническом госпитале имени Н. Н. Бурденко с 2005 по 2007 гг. проведено лечение методом ФДТ 58 больных с БКРК и 26 – с кератомами. Возраст больных колебался от 40 до 89 лет, составляя в среднем 72,4 года. Мужчин было 63 (75 %), женщин – 21 (25 %).

Преобладали больные с первичным БКРК (67,2 %). Рецидивы БКРК были у 32,8 % больных. Использовалась лазерная установка АТКУС (Россия). Выходная мощность лазера составляла 0,1–2,0 Вт. Во время лечения плотность мощности излучения была от 0,1 до 0,4 Вт/см<sup>2</sup>.

Количество фотосенсибилизатора фотодитазина наносили из расчета 0,2 мл на 1 см<sup>2</sup> площади очага поражения кожи с экспозицией 15–30 мин. Длительность облучения зависела от размера опухоли и составляла от 60 с до 15–20 мин. В случае возникновения локальной болезненности делался перерыв несколько минут, т.е. облучение проводили фракционно. Для облучения опухолей использовался световод с микролинзой на конце.

**Результаты.** У 58 больных БКРК было 83 опухоли. Среди клинических вариантов БКРК преобладала поверхностная (53 %) форма. Реже встречалась солидная (45 %). Редкими формами были язвенная (2 %) и пигментная (1 %). Большую часть составляли больные с единичными очагами БКРК – 46 (79,35 %). У 20,7 % были множественные очаги. Локализация БКРК преобладала на голове (68,7 %).

Эффективность ФДТ оценивалась по следующим критериям: полная резорбция (ПР) опухоли – отсутствие признаков опухолевого роста; частичная резорбция (ЧР) – уменьшение размеров опухоли не менее, чем на 50 %; без эффекта (БЭ) – уменьшение размера опухоли менее, чем на 50 %.

Полная резорбция БКРК наступила у 52 (89,7 %) больных, частичная – у 6 (10,3 %). Оба результата принято оценивать как положительный терапевтический эффект. Абсолютной резистентности опухолей к ФДТ не обнаружено. 6 больным с ЧР проведены повторные сеансы ФДТ, после чего в процессе наблюдения отмечена ПР опухолей. При диспансерном наблюдении 52 больных БКРК с ПР опухолей в сроки от 2 до 25 мес рецидивы опухолей выявлены у 7 (13,5 %). Из 33 очагов кератом был рецидив только 1 (3 %), который разрешился после повторного сеанса ФДТ.

При лечении использовали различные дозы световой энергии: от 150 до 500 Дж/см<sup>2</sup>. На поверхностные очаги давалась доза 150–300 Дж/см<sup>2</sup>, на солидные образования – 300–500 Дж/см<sup>2</sup>. При этом на кератомы давалась минимальная доза, на базалиомы – максимальная.

**Выводы.** Проведенный анализ позволяет сделать вывод, что ФДТ существенно расширяет арсенал средств для лечения кератом, поверхностных базалиом и солидных базалиом небольших размеров до 10 мм в диаметре и высотой не более 1 мм, как первичных, так и рецидивного характера. Косметические результаты после лечения расценены как отличные и хорошие.

*М. Л. Гельфонд, Г. И. Гафтон, В. М. Гельфонд,  
В. В. Егоренков, Н. В. Леоненкова*  
**СОВРЕМЕННОЕ АНЕСТЕЗИОЛОГИЧЕСКОЕ  
ПОСОБИЕ И ИНТРАОПЕРАЦИОННАЯ ФДТ  
В ПРОФИЛАКТИКЕ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ**

**ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ РАКЕ ПИЩЕВОДА  
И ЖЕЛУДКА**

*ГУН НИИ онкологии им. проф. Н. Н. Петрова Росздрава, Санкт-Петербург*

**Введение.** Операции по поводу рака пищевода и желудка являются одним из самых сложных разделов абдоминальной хирургии. По многочисленным литературным данным, ранняя послеоперационная летальность достигает 35 % и более. Только комплексный подход к решению данной проблемы позволит существенно уменьшить летальность, число тяжелых послеоперационных осложнений, сократить длительность пребывания пациента в стационаре, особенно в отделении реанимации и интенсивной терапии, и тем самым снизить экономические затраты лечебного учреждения.

**Материалы и методы.** В исследование включены больные с карциномами пищевода и желудка II и III стадий. Из них 150 человек (контрольная группа) оперированы в условиях традиционного анестезиологического пособия на фоне ИВЛ, а 2-я группа (15 человек) – с помощью продленной спинально-эпидуральной анестезии с использованием интраоперационной ФДТ с препаратом фотодитазин. Лазером облучалась паразофагеальная зона выше и ниже диафрагмы при раке пищевода, передняя поверхность головки поджелудочной железы и ворота селезенки, лимфатические барьеры II бассейна лимфообращения.

**Результаты.** Число осложнений у больных 2-й группы снизилось до нуля, причем, отмечена быстрая нормализация функционального состояния поджелудочной железы, что позволило прекратить терапию сандостатином и контрикалом на 10 сут раньше, чем в контрольной группе. В послеоперационном периоде больным 2-й группы не требовалось введения наркотических анальгетиков. Значительно раньше восстанавливалась функция кишечника. Койкодень пребывания в стационаре сократился по сравнению с больными контрольной группы на 5–10 дней. В течение 6–18 мес послеоперационного мониторинга данных за прогрессирование процесса у больных 2-й группы нет.

**Выводы.** Комплексный подход к лечению больных раком пищевода и желудка, включающий предоперационную подготовку, современное анестезиологическое пособие, интраоперационную ФДТ и продленную спинально-эпидуральную анестезию в послеоперационном периоде, позволил избежать послеоперационных осложнений, улучшить качество и продолжительность жизни больных и существенно снизить материальные затраты лечебного учреждения.

*Е. В. Горанская, В. Н. Капинус, М. А. Каплан,  
М. В. Киселева, О. И. Туркин, С. Д. Фомин*

**РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ  
ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО ЛИЗИСА  
В ЛЕЧЕНИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

*ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск*

**Введение.** Рак молочной железы (РМЖ) – на сегодня одна из наиболее распространенных злокачественных опухолей у женщин. В 2002 г. в России РМЖ заболели 45,9 тыс. женщин, а 22,1 тыс. умерли от него. 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 электрохимический лизис (ЭХЛ).

**Задачи исследования.** Разработка и возможности применения метода ЭХЛ в комбинированном лечении РМЖ.

**Материалы и методы.** Исследование проведено 17 пациенткам с различными стадиями заболевания: 9 (52,9 %) – 2А (6 пациенток со стадией Т<sub>2</sub>Ν<sub>0</sub>Μ<sub>0</sub>, 3 – Т<sub>1</sub>Ν<sub>1</sub>Μ<sub>0</sub>), 2 (11,7 %) – 3А (Т<sub>3</sub>Ν<sub>1</sub>Μ<sub>0</sub>, Т<sub>3</sub>Ν<sub>2</sub>Μ<sub>0</sub>), 2 (11,7 %) – 3В (Т<sub>4</sub>Ν<sub>0</sub>Μ<sub>0</sub>, Т<sub>4</sub>Ν<sub>1</sub>Μ<sub>0</sub>), 3 (17,6 %) – пациентки после комбинированного лечения с прогрессированием процесса и отдаленными метастазами. В 7 случаях (41,1 %) имел место инфильтрирующий протоковый рак, в остальных аденокарцинома. Лечение проводилось аппаратом ECU-300 немецкой фирмы Sorring с помощью платиновых электродов от 4 до 10, вводимых как в сам опухолевый узел, так и перитуморально. Электроды вводились под местной инфильтрационной анестезией, под контролем УЗИ. При лечении использовались параметры: I от 50 до 80 мА, время от 25 до 40 мин, заряд от 2100 до 3200 Кл. ЭХЛ проводился с комбинированным лечением (хирургиче-

ским на 8–9-е сут после ЭХЛ, лучевым – ДГТ до СОД – 50 Гр, химиотерапевтическим – от 1 до 3 курсов ФАС методами). Эффективность оценивалась под контролем УЗИ, маммографии, КТ, гистологическо-го исследования.

**Результаты.** При оценке по данным УЗИ и маммографии в 8 случаях (47 %) отмечалось уменьшение опухолевого узла от 10 до 43 %, в 1 случае (5,8 %) – регресс на 60 %, в 1 случае (5,8 %) на месте опухолевого узла осталось несколько тяжей, в 4 (23,5 %) отмечался рост опухолевого узла от 14 до 30 %. Гистологически наблюдался лечебный патоморфоз 1–3-й степени. В 1 случае некроз составлял 90 %, в 6 случаях – 40 %, остальные – менее 40 %.

**Выводы.** Метод электрохимического лизиса может применяться при различных стадиях процесса. Он применим как при первичных опухолях, так и при прогрессировании процесса. ЭХЛ может применяться неоднократно как на опухолевый очаг, так и на пораженные лимфоузлы. ЭХЛ может применяться в лечении опухолевых узлов различного размера, так как зависит только от числа используемых электродов. При электрохимическом лизисе во всех случаях был получен некроз опухолевого узла различной степени выраженности, что говорит об эффективности ЭХЛ. Кроме того, вышеописанный метод лечения – наиболее экономичен.

*Т. А. Демура, О. А. Склянская, С. С. Кардашева*  
**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ  
 ТАРГЕТНОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ  
 ТЕРАПИИ ПРИ ПИЩЕВОДЕ БАРРЕТТА**

*ММА им. И. М. Сеченова, Москва*

**Введение.** Фотодинамическая терапия (ФДТ) особенно эффективна при терапии предраковых изменений. Пищевод Барретта (ПБ) – это заболевание нижней трети пищевода, при котором многослойный плоский эпителий замещается цилиндрическим, кишечного типа. На фоне ПБ частота развития аденокарциномы (АК) возрастает в 30–125 раз.

**Цель исследования.** Патогенетическое обоснование фотодинамической терапии при ПБ.

**Материалы и методы.** Исследование выполнено на материале эндоскопических биопсий от 18 больных с ПБ, в том числе 6 больных с дисплазией и 2 с АК. Методы: иммуногистохимическое исследование опухолевых маркеров с помощью моноклональных антител к P53, Ki67, СК10/13, СК8 и апоптоза – tunel test. Маркер пролиферации Ki 67 определялся в ядрах базальных клеток плоского и в железистом эпителии в виде продукта коричневого цвета.

**Результаты.** Отмечено повышение пролиферативного индекса в пищеводе Барретта по сравнению с плоским эпителием при ГЭРБ ( $p < 0,05$ ). Индекс пролиферации выше в плоском эпителии, расположенном рядом с кишечной метаплазией ( $p < 0,05$ ) по сравнению с плоским эпителием контрольной группы с ГЭРБ. Индекс пролиферации увеличивается по мере повышения степени дисплазии при пищеводе Барретта. Исследования маркеров апоптоза в данной группе пациентов показали, что при желудочной метаплазии уровень апоптоза не отличается от такового в контрольной группе. Повышение апоптоза наблюдалось при развитии кишечной метаплазии и дисплазии ( $p < 0,05$ ). При дисплазии высокой степени и в препаратах АК апоптоз снижается, что отражает нарушение клеточных механизмов контроля в данной группе больных. P53 выявлялся в некоторых клетках кишечной метаплазии, его экспрессия существенно увеличивалась при прогрессировании дисплазии и была максимальной в АК ( $p < 0,05$ ). СК10/13 и СК 8 – маркеры плоскоклеточной и железистой дифференцировки содружественно выявлялись в очагах дисплазии и АК, что свидетельствует об общности их цитогенеза и возможной связи с эпителиальной стволовой клеткой.

**Выводы.** Установлено, что в очагах дисплазии и АК при ПБ усиливается новообразование сосудов, повышается пролиферация и апоптоз, что может быть мишенью для таргетной ФДТ.

*В. А. Дербенев, А. М. Азимшоев, А. Д. Шарифов*  
**ФОТОДИТАЗИН В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ  
 ГНОЙНЫХ РАН**

*ФГУ ГНЦ лазерной медицины Росздрава, Москва*

**Введение.** Лечение гнойных ран мягких тканей и стимуляция их заживления остается актуальной проблемой с точки зрения современных требований.

**Цель исследования.** Улучшить результаты лечения больных с гнойными ранами мягких тканей путем фотодинамической терапии.

**Материалы и методы.** В работе представлен опыт лечения 93 больных с гнойными ранами мягких тканей различного генеза и локализации в возрасте от 19 до 67 лет. В зависимости от метода лечения больные были распределены на 2 группы: в 1-ю включены 43 пациента, которым была проведена ФДТ с использованием 0,1% и 0,5% геля фотодитазина; во 2-й группе 50 больных лечили общепринятыми традиционными методами. Группы репрезентативны по глубине, распространенности, тяжести процесса, возрасту и сопутствующим заболеваниям. ФДТ осуществляли после 1,5–2-ч аппликации 0,1% или 0,5% геля фотодитазина, освещение ран проводили аппаратом «Аткус – 2» при плотности энергии 30 Дж/см<sup>2</sup>. После сеанса на рану накладывали салфетки «Мультиферм». Перевязки производили ежедневно. 7 больным через 2–3 сут проводили повторный сеанс ФДТ. После очищения и гранулирования ран перевязки делали через 2–3 дня.

**Результаты.** Анализ результатов исследований показал высокую эффективность предлагаемой методики лечения гнойных ран. По данным клинических наблюдений при использовании ФДТ по сравнению с традиционным методом отмечается сокращение сроков очищения раневой поверхности от гнойно-некротических масс в 1,7 раза, появление грануляций – в 1,5 раза, начало эпителизации – в 1,9 раза. Средние сроки заживления гнойных ран составили при традиционном лечении 26,2±1,9 дня, а при ФДТ с гелем фотодитазина – 18,6±1,6 дня с образованием эластичного, не спающего с подлежащими тканями рубца. Микробиологические исследования показали, что уже на следующие сутки после ФДТ отмечается снижение микробной обсеменности раневой поверхности ниже критического уровня. Цитологические исследования раневого экссудата после ФДТ с гелем фотодитазина выявили активацию фагоцитоза, уменьшение воспалительной инфильтрации тканей, ускорение роста и созревание грануляционной ткани.

**Выводы.** На основании проведенного исследования установлено, что ФДТ с гелем фотодитазина гнойных ран мягких тканей высоко эффективна и может быть рекомендована к широкому клиническому использованию.

*В. А. Дербенев, И. А. Морозенков, Э. Ш. Якубов,*  
*А. Д. Шарифов*

**ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ  
 ОСЛОЖНЕННЫХ ФОРМ РОЖИ**

*ФГУ ГНЦ лазерной медицины Росздрава, Москва*

**Введение.** Наличие осложненных форм рожки с быстрым появлением новых участков некрозов и увеличение резистентности микроорганизмов к антибиотикам и антисептикам требуют совершенствования методик лечения данной категории больных.

**Материалы и методы.** Проведен анализ эффективности комплексного лечения флегмонозной и гангренозной рожки нижних конечностей у 130 пациентов. Больные были распределены на 3 группы. В 1-й – 50 больным применено традиционное лечение: некрэктомия, антибиотикотерапия, перевязки с антисептиками и различными мазями, физиотерапия. Во 2-й группе 50 пациентам раны обрабатывали высокоэнергетическим СО<sub>2</sub>-лазером, выполняли перевязки с аналогичными антисептиками и мазями и на раны воздействовали низкоинтенсивным ИК-лазерным излучением. В 3-й группе 30 больным через 2–3 сут после некрэктомии проводили ФДТ, которое при необходимости повторяли через 2–3 сут, общее лечение было аналогично больным 1-й группы. ФДТ осуществляли после 1,5–2-ч аппликации 24 больным салфеток, смоченных раствором фотодитазина и димексида, 6 пациентам – 0,5% геля фотодитазина, освещение ран проводили аппаратом «Аткус – 2» при плотности энергии 30 Дж/см<sup>2</sup>.

**Результаты.** Анализ результатов исследований показал высокую эффективность предлагаемых методик лечения осложненных форм рожки. Использование лазерного излучения и ФДТ приводит к ускоренному купированию воспалительных явлений, сокращению сроков очищения ран от некротических и пропитанных гноем тканей и фибринозных наложений, ускорению появления грануляций и начала эпителизации, что позволяет уменьшить длительность заживления и эпителизации ран. При традиционном лечении сроки заживления ран составили 38,7±2,1 дня, при применении высокоэнергетического и низкоинтенсивного лазерного излучения раны эпителизовались за

26,3±1,8 дня, при использовании фотодинамической терапии с фотодитазином этот срок составил 27,1±1,8 дня.

**Выводы.** Таким образом, ФДТ с фотодитазином осложненных форм рожи является высокоэффективной и хорошо переносится больными. Достоинством геля фотодитазина является готовая форма для применения, простота применения, возможность доставки препарата в карманы и полости. Побочных эффектов при ФДТ с фотодитазинном не было выявлено, что позволяет рекомендовать ее к широкому клиническому использованию.

*В. А. Евтушенко*

### ФДТ С ФОТОДИТАЗИНОМ БОЛЬНЫХ БАЗАЛЬНОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ КОЖИ И ТЯЖЕЛЫМИ СОПУТСТВУЮЩИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

*ГУ НИИ онкологии ТНЦ СО РАМН, Томск*

**Введение.** За последнее десятилетие во всем мире отмечается стремительный рост заболеваемости раком кожи. В Сибирском федеральном округе рак кожи в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями занимает 4-е место (11 % случаев), среди них большие базальноклеточным раком составляют более 70 %, возраст которых почти в половине случаев превышает 60 лет. За небольшим исключением у больных имеется масса сопутствующих заболеваний, ограничивающих их пребывание в специализированном стационаре и лечение в амбулаторных условиях.

**Задачи исследования.** Изучить возможность ФДТ базальноклеточного рака кожи у пациентов с тяжелой сопутствующей патологией.

**Материалы и методы.** В исследование включены 15 больных базальноклеточным раком кожи в возрасте 60–86 лет с сахарным диабетом (3), гипертонической болезнью (5); инсульт в анамнезе был у 4 пациентов, перенесли инфаркт миокарда 2 человека. 1 больной с опухолью поясничной области 23×27 см ранее перенес операцию по поводу рака легкого, инфаркт миокарда, инсульт, страдал ожирением и сахарным диабетом. ФДТ проводилась с фотодитазинном, который вводился однократно в дозе 0,7 мг/кг внутривенно капельно в течение 30–40 мин в 200 мл физиологического раствора. Лазерное облучение проводилось в дозе 300–350 Дж/см<sup>2</sup> с помощью лазерной установки «Аллод-01». 1 пациент был госпитализирован на время лечения, остальные ФДТ выполнена амбулаторно.

**Результаты.** Сеансы ФДТ все пациенты перенесли хорошо, реакций на введение фотодитазина не было, ухудшения общего состояния в течение месяца не отмечено. При оценке непосредственного эффекта в течение 3 мес у 13 больных отмечена полная регрессия опухоли, 2 больным проведены повторно сеансы ФДТ с хорошим эффектом. Сроки наблюдения за больными составляют 4–6 мес.

**Выводы.** ФДТ с фотодитазинном базальноклеточного рака кожи позволяет провести адекватное лечение опухоли при наличии тяжелой сопутствующей патологии пожилым больным в амбулаторных условиях. Применяя этот метод, возможно решение проблем социальных, организационных и занятости профильных коек.

*К. В. Ермакова<sup>1</sup>, И. Ю. Кубасова<sup>1</sup>, Л. Н. Борисова<sup>1</sup>,  
М. П. Киселева<sup>1</sup>, Е. А. Коган<sup>3</sup>, Г. А. Меерович<sup>4</sup>,  
З. С. Смирнова<sup>1</sup>, А. Ю. Барышников<sup>1</sup>, Е. А. Лукьянец<sup>2</sup>,  
Г. Н. Ворожцов<sup>2</sup>*

### ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФОТОСЕНСА ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО УДАЛЕНИЯ ГЛИОМЫ С6 КРЫС

*<sup>1</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва*

*<sup>2</sup>ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва*

*<sup>3</sup>ММА им. И. М. Сеченова, Москва*

*<sup>4</sup>ЦЕНИ институт общей физики им. А. М. Прохорова РАН, Москва*

**Введение.** В структуре смертности от онкологических заболеваний опухоли мозга составляют около 2 %. Наименее благоприятным остается прогноз у больных мультиформными глиобластомами (МГ). Это связано с инфильтративным характером роста МГ и практически 100%-ным рецидивированием опухоли после хирургического удаления. Медиана выживаемости больных с глиомами высокой степени злокачественности составляет менее 12 мес после хирургического удаления опухоли, радио- и химиотерапии. В настоящее время флюо-

ресцентный контроль резекции опухолей мозга позволяет добиться более полного удаления опухоли и увеличения безрецидивного периода, а интраоперационная фотодинамическая терапия (ФДТ) приводит к увеличению продолжительности жизни больных.

**Цель исследования.** Оценить эффективность хирургического удаления опухоли при сочетании с интраоперационной ФДТ с использованием фотосенса.

**Материалы и методы.** Глиому С6 перевивали интракраниально крысам Wistar по 400×10<sup>3</sup> опухолевых клеток. Фотосенс вводили внутривенно в дозе 2 мг/кг за 24 ч до хирургического удаления опухоли и декомпрессионной краниэктомии размером 5 × 4 мм на 7-й день после перевивки. После удаления опухоли ложе облучали лазером с параметрами: 100 мВт/см<sup>2</sup> в течение 15 мин. Критериями эффективности служили увеличение продолжительности жизни крыс в опытных по сравнению с контрольной группой (УПЖ, %) и патоморфоз ложа опухоли.

**Результаты.** После хирургического удаления глиомы С6 УПЖ составляло 21 %. При сочетанном хирургическом удалении опухоли и ФДТ УПЖ было равно 22 %. При патоморфологическом исследовании характер повреждений ложа опухоли в опытной группе выражен сильнее, чем в контрольной, в которой отмечались выраженные явления отека и продуктивного васкулита с лимфоидной инфильтрацией клеток. В опытных же группах выявлялись центральные поля некроза и выраженный отек мозга и часто продолженный краевой рост опухоли.

**Выводы.** Полученные данные свидетельствуют об эффективности проведения сочетанного лечения глиомы С6 и необходимости дальнейших экспериментальных исследований по изучению частоты и сроков рецидивирования.

*Е. Г. Ефимова, А. А. Чейда, Е. В. Гарасько, И. В. Пругер,  
П. Н. Короблин, Е. В. Кузьмина, А. С. Добролюбов*

### АНТИМИКРОБНЫЕ ЭФФЕКТЫ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

*ГБОУ ВПО ИвГМА Росздрава, Иваново*

**Задачи исследования.** Определить перспективы фотодинамического воздействия на штаммы внеклеточных микроорганизмов.

**Материалы и методы.** Из гнойной мокроты больных с клиническими и рентгенологическими признаками тяжелой внебольничной пневмонии выделены: *Staphylococcus aur.*, *Streptococcus*, *Enterobacter agglomerans*, *Citrobacter amalonaticus*, *Candida alb.* Для определения способности бактерий и грибов захватывать и удерживать N-диметилглюкоаминовую соль хлорина Е6 (фотосенсибилизирующее средство, ФС) взвесь микроорганизмов в темноте инкубировали в 0,9%-ном растворе натрия хлорида с 0,1 мл 1%-ного геля ФС в течение 1,5 ч, при t 37 °С, высевали на плотные питательные среды, через 16 ч культивирования в термостате при t 37 °С оценивали результат. Для сенсибилизации к лазерному излучению (ЛИ) применена темновая инкубация взвеси микроорганизмов в смеси 0,9%-ного раствора натрия хлорида с 0,5%-ным раствором ФС (1:1) и темновая аппликация салфеток, пропитанных вышеуказанной смесью растворов, на культуру микроорганизмов на плотной питательной среде. Через 2 ч микроорганизмы на плотных средах облучали методом кругового поля. Мощность ЛИ на выходе волокна – 0,147; 0,243; 0,475 Вт. Плотность потока энергии падающего ЛИ – 1; 10; 15 Дж/см<sup>2</sup>, плотность потока мощности 0,11; 0,18; 0,36 Вт/см<sup>2</sup>. Взвесь микробов в смеси растворов облучали через 2 ч в лунках стерильного планшета ТУ 64-2-278-79 (0,475 Вт; 1,23 Вт/см<sup>2</sup>; 15; 30; 50 Дж/см<sup>2</sup>). Световую дозу подвели перпендикулярно поверхности с помощью моноволоконного кварцевого световода (d оптического волокна 600 мкм) с прямым выходом излучения. Для характеристики бактерицидной активности непрерывного ЛИ с длиной волны 662 нм (соответствующей максимуму поглощения ФС) культуру микроорганизмов на плотной питательной среде облучали в идентичных режимах. Результат оценивали по характеру роста материала из основных и контрольных зон облучения и необлученных зон.

**Результаты.** Культуры микроорганизмов, включенные в исследование, задерживают ФС. Облучение сенсибилизированных микроорганизмов обеспечивает бактерицидный эффект; полный – для *Candida alb.* и *Enterobacter agglom.* в смеси растворов; в остальных случаях – частичный, нарастающий с увеличением плотности мощ-

ности ЛИ. Отмечен феномен генетической трансформации стрептококка.

**Выводы.** Внеклеточные микроорганизмы могут быть объектом фотодинамической терапии. При облучении ЛИ (662нм) в сенсibilизированных хлором еб грам<sup>+</sup>, грам<sup>-</sup> бактериях и грибах развиваются фотохимические реакции, зависящие от плотности мощности и экспозиционной дозы ЛИ.

*Н. И. Казачкина<sup>1</sup>, Р. И. Якубовская<sup>1</sup>, В. В. Соколов<sup>1</sup>,  
Н. Б. Морозова<sup>1</sup>, Е. А. Лукьянец<sup>2</sup>, Н. Т. Райхлин<sup>3</sup>*

### ЭФФЕКТИВНОСТЬ СОЧЕТАННОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ И ХИМИОТЕРАПИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

<sup>1</sup>Московский научно-исследовательский онкологический институт  
им. П. А. Герцена, Москва

<sup>2</sup>ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва

<sup>3</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАНМ, Москва

**Задача исследования.** Изучение противоопухолевой эффективности фотодинамической терапии с фотосенсом (Фс) в сочетании с химиотерапией (ХТ).

**Материалы и методы.** В работе использовали мышей BDF<sub>1</sub> с опухолью Р-388, привитой подкожно. Фс вводили на 5-й день роста опухоли в дозе 5 мг/кг. ФДТ ( $\lambda=670\pm 15$  нм, 220 мВт/см<sup>2</sup>, 198 Дж/см<sup>2</sup>) проводили через сутки – на 6-й день роста опухоли, когда у мышей опухолевый рост определялся не только в зоне перевивки, но и в лимфатических узлах, что верифицировано гистологически. Цитостатики (ДДП, 5-ФУ, адриамидин (Ад), циклофосфан (Цф)) вводили однократно в терапевтических дозах до или после сеанса ФДТ с интервалом между ХТ и облучением от 48 ч до 1–2 мин. Эффективность лечения оценивали по торможению роста опухоли (ТРО, %) и увеличению продолжительности жизни (УПЖ, %) мышей.

**Результаты.** Сочетание ФДТ с химиотерапией (ХТ) при введении цитостатиков как до, так и после ФДТ, оказывало противоопухолевый эффект, который превышал таковой от применения отдельных компонентов лечения. Максимальные значения ТРО колебались от 80 % до 92 % в зависимости от схемы лечения. При всех схемах лечения средняя продолжительность жизни мышей, получавших ФДТ в сочетании с ХТ, была выше, чем при использовании ФДТ или ХТ по отдельности. Сроки жизни мышей повышались наиболее значительно при введении 5-ФУ, Цф или Ад через 24 ч после ФДТ, а ДДП – на различные сроки до облучения.

**Выводы.** В результате проведенной работы показано, что противоопухолевая эффективность сочетанного лечения ФДТ с Фс и цитостатиками выше, чем ФДТ или ХТ, использованными по отдельности, при этом эффективность сочетанного лечения зависит от последовательности применения его компонентов. Последовательность ФДТ и ХТ не одинакова для различных цитостатиков. Полученные данные могут оказаться полезными для разработки схем лечения злокачественных опухолей с включением как моно-, так и полихимиотерапии и ФДТ.

*В. Н. Катинус, М. А. Каплан*

### ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ РАКА ВЕРХНЕЙ И НИЖНЕЙ ГУБЫ

ГУ Медицинский радиологический научный центр РАНМ, Обнинск

**Введение.** Конвенциональные методы лечения рака верхней и нижней губы достаточно эффективны, но в то же время в определенном проценте случаев развиваются рецидивы заболевания. Кроме того, существуют определенные проблемы и недостатки используемых стандартных методов, такие, как сложность оперативных вмешательств, продолжительность лучевого лечения, возможность развития осложнений.

**Задачи исследования.** Разработка и оценка диагностической и лечебной эффективности малоинвазивной органосохраняющей методики фотодинамической терапии (ФДТ) первичного очага у больных раком губы.

**Материалы и методы.** Исследование по изучению эффективности ФДТ у больных раком верхней и нижней губы проведено в группе из 28 пациентов, из них 8 (28,6 %) были ранее лечены, т.е. имел место неполный регресс опухоли или ее рецидив. У 22 (78,6 %) паци-

ентов был диагностирован плоскоклеточный рак нижней губы, у 3 (10,7 %) – базально-клеточный рак нижней губы и у 3 (10,7 %) – базальноклеточный рак верхней губы. Распространенность опухолевого процесса была следующей: Т<sub>1</sub> – у 11 (39,3 %), Т<sub>2</sub> – у 12 (42,9 %), Т<sub>3</sub> – у 4 (14,3 %), Т<sub>4</sub> – у 1 (3,6 %) человека. Регионарное метастазирование выявлено в 2 случаях, отдаленное не было диагностировано.

В качестве фотосенсибилизаторов использовались отечественные препараты фотосенс (2,0), фотолон (1,2–2,5 мг/кг) и фотодитазин (0,7–0,8 мг/кг). К опухолям подводилась световая энергия от 300 до 600 Дж/см<sup>2</sup>, количество сеансов 1–3.

**Результаты.** Полная регрессия опухолевых очагов зарегистрирована у 24 из 28 больных (85,7 %), частичная – у 4 (14,3 %) пациентов, отсутствия эффекта не отмечалось. При лечении рецидивных опухолей процент полных регрессий составил 75,0 %, частичных – 25,0 %. Пациентам с частичной регрессией опухоли проводились повторные сеансы ФДТ с позитивным результатом.

У 26 больных сроки наблюдения составили от 3 мес до 6 лет. За наблюдаемый период у 1 пациента диагностирован рецидив плоскоклеточного рака нижней губы через 3 мес и еще у 1 больного через 4,5 года был выявлен рецидив базальноклеточного рака верхней губы с распространением на кожу. После ФДТ 2 больным по поводу регионарного метастазирования проводили: лучевую терапию или хирургическое иссечение лимфатических узлов шеи. У остальных пациентов в исследуемой группе последующего лечебного воздействия на зоны регионарного метастазирования не осуществлялось, так как при комплексном обследовании не были выявлены метастазы в лимфоколлекторы и внутренние органы, и на сроках наблюдения от 3 мес до 6 лет не диагностировано регионарного и отдаленного метастазирования. Анализ отдаленных результатов выявил прогрессирование заболевания у 1 больного (3,8 %) в виде метастазирования в регионарные лимфатические узлы, но местного рецидива не отмечено.

**Выводы.** ФДТ позволяет эффективно лечить как первичный, так и рецидивный рак верхней и нижней губы, полная резорбция опухоли может быть достигнута при однократном воздействии, но возможны повторные сеансы для поэтапного разрушения опухоли. Кроме того, эффективное лечение первичного очага методом ФДТ возможно не только в комбинированном варианте, но и в самостоятельном, так как при динамическом наблюдении отдаленного метастазирования не выявляется.

*М. А. Каплан<sup>1</sup>, Р. Г. Никитина<sup>1</sup>, В. А. Ольшевская<sup>2</sup>,  
А. В. Зайцев<sup>2</sup>, А. В. Кучин<sup>3</sup>, В. В. Дроздежин<sup>1</sup>,  
Т. Г. Морозова<sup>1</sup>, М. В. Мальцакова<sup>3</sup>, Д. В. Белых<sup>3</sup>,  
В. Н. Калинин<sup>2</sup>, А. А. Штиль<sup>4</sup>*

### НОВЫЕ ОТЕЧЕСТВЕННЫЕ БОРСОДЕРЖАЩИЕ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ ДЛЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ

<sup>1</sup>ГУ Медицинский радиологический научный центр РАНМ, Обнинск

<sup>2</sup>Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова РАН, Москва

<sup>3</sup>Институт химии Коми Научного центра УрО РАН, Сыктывкар

<sup>4</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАНМ, Москва

**Введение.** Современная терапия злокачественных опухолей, как правило, не ограничивается применением одного способа лечения, а использует их сочетание. Это вызвано тем, что каждый из используемых методов имеет не только преимущества, но и недостатки, которые необходимо компенсировать. Так, борсодержащие фотосенсибилизаторы позволяют сочетать фотодинамическую терапию (ФДТ) с борнейтронозахватной, что расширяет возможности каждой.

**Задача исследования.** Изучение противоопухолевой активности борированных производных гемина (боргемин) и хлорина (борхлорин) в ФДТ.

**Материалы и методы.** Противоопухолевый эффект изучали на беспородных крысах с перевивной саркомой М1. По достижении опухоли размера 0,5–0,7 см в диаметре внутрибрюшинно вводили фотосенсибилизатор, количество которого для боргемина составило 2,5; 5,0; 10,0 или 20,0 мг/кг массы животного, для борхлорина – 5,0; 10,0 или 25,0 мг/кг. Через 24 ч после введения боргемина или через 3 ч – борхлорина опухоль облучали лазером с длиной волны соответственно 630 нм или 670 нм. Плотность энергии лазерного излучения составляла 300 Дж/см<sup>2</sup>. Эффективность проводимого лечения оцени-

вали по коэффициенту абсолютного прироста опухоли, проценту торможения ее роста и проценту полной ее регрессии (отсутствие пальпируемой опухоли).

**Результаты.** Показано, что оба препарата обладают фотоактивными свойствами и могут быть использованы для ФДТ и изучения кинетики накопления фотосенсибилизаторов в опухоли. Увеличение дозы препарата усиливало противоопухолевый эффект ФДТ, что проявлялось не только в торможении роста опухоли, но и в полной ее регрессии. Препараты не вызывали общерегортивной токсичности.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №05-03-08155офи\_а.*

*М. А. Каплан<sup>1</sup>, В. П. Мардынская<sup>1</sup>, Н. И. Сокол<sup>1</sup>,  
А. И. Малыгина<sup>1</sup>, Р. Г. Никитина<sup>1</sup>, Г. В. Пономарев<sup>2</sup>*  
**ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ  
СПИРУЛИНЫ, ЛАМИНАРИИ  
И ИХ ДЕРИВАТОВ В КАЧЕСТВЕ  
ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ  
ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ  
КАРЦИНОМ ЛЬЮИСА И ЭРЛИХА  
И САРКОМЫ М1**

<sup>1</sup>ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск

<sup>2</sup>Институт биомедицинской химии РАМН, Москва

Большой интерес представляет изучение возможности применения перорально введенной нативной спирулины или её дериватов, а также дериватов ламинарии в качестве фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии (ФДТ) карцином Льюиса и Эрлиха и саркомы М1, а затем выбора из них препарата с наибольшим фотодинамическим эффектом.

Проведен эксперимент с повтором в 2 сериях на 582 мышах массой 20 г, из них 154 животных составили контроль. В каждой группе было по 12–20 животных, в контроле – до 45. Опухоль перевивали животным подкожно в область бедра. Спирулину или её дериваты давали животным *per os* однократно и через 3 ч после этого проводили ФДТ.

Результаты исследований показали, что наилучший фотодинамический эффект после ФДТ карцином Льюиса и Эрлиха достигался со спирулиной, феофорбидом «а» (10 мг/кг), метилфеофорбидом «а» (10мг/кг).

С саркомой М1 наименьшая скорость прироста опухоли наблюдалась в группах с 3 мл жидкого очищенного ламифарена, вводимого через зонд ежедневно в течение 7 дней и с 50 мг на кг массы животного очищенного порошка ламифарена внутривентриально 3-кратно с последующей ФДТ через 3 ч.

*Е. А. Коган<sup>1</sup>, С. А. Демура<sup>1</sup>, З. С. Смирнова<sup>2</sup>,  
И. Ю. Кубасова<sup>2</sup>, К. В. Ермакова<sup>2</sup>, Г. А. Меерович<sup>3</sup>,  
А. Ю. Барышников<sup>1</sup>, Е. А. Лукьянец<sup>4</sup>, Г. Н. Ворожцов<sup>4</sup>*

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ  
ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РЕЦИДИВИРОВАНИЯ  
ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ ПОСЛЕ  
ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ**

<sup>1</sup>ММА им. И. М. Сеченова, Москва

<sup>2</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

<sup>3</sup>ЦЕНИ ИОФ им. А. М. Прохорова РАН, Москва

<sup>4</sup>ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва

**Введение.** Применение ФДТ при опухолях глиального происхождения вызывает большие трудности в связи с особенностями локализации новообразований и частым рецидивированием.

**Цель исследования.** Оценить морфологические особенности эффективности хирургического удаления глиомы С6 в сочетании с интраоперационной ФДТ с использованием фотосенсера.

**Материалы и методы.** Глиому С6 перевивали интракраниально крысам породы Wistar. Животные были разделены на 3 группы: 1-я – ФДТ с использованием фотосенсера (10 животных), 2-я – хирургическое удаление опухоли в сочетании с интраоперационной ФДТ (10), 3-я – контроль (5). На 3-е, 7-е и 9-е сут животные забивались, проводилось морфологическое исследование тканей в области роста опухоли.

**Результаты.** Рецидив и сохранявшаяся опухолевая ткань выявлены у 50 % животных 1-й группы с ФДТ, тогда как среди животных

2-й группы, где хирургическое удаление опухоли сочеталось с интраоперационной ФДТ, – только у 20 % крыс. Источником роста (рецидива) опухоли являлись сохранные опухолевые клетки в глубинных структурах мозга, располагавшиеся в периваскулярных пространствах. Установлено, что макроскопические размеры выявленных опухолей больше их размеров при микроскопическом исследовании за счет повреждения прилежащей ткани мозга, что особенно было выражено во 2-й группе. Площадь некроза и выраженность апоптоза в относительных единицах была выше у крыс опытной группы по сравнению с контрольными. Деструкция микрососудов, кровоизлияния и тромбоз сосудов обнаруживались только в ткани опухолей опытных групп. Митозы резко снижались в опухоли после ФДТ.

**Выводы.** В результате проведенного исследования установлено, что при проведении ФДТ и хирургическом удалении глиомы С6 в сочетании с интраоперационной ФДТ сохраняется возможность рецидива опухоли за счет сохранения жизнеспособных опухолевых клеток в периваскулярной ткани в глубине мозговых извилин и ткани головного мозга.

*С. В. Козлов, А. А. Морятов, М. А. Морозова, И. И. Круглова*  
**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СПОСОБА  
КОРРЕКЦИИ ДИСФАГИИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ  
ПИЩЕВОДА И КАРДИАЛЬНОГО ОТДЕЛА  
ЖЕЛУДКА МЕТОДОМ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ  
ТЕРАПИИ**

*Областной клинический онкологический диспансер, Самара*

**Введение.** Актуальность исследования обусловлена необходимостью разработки и внедрения в онкологическую практику методов уточняющей диагностики и лечения рака пищевода, позволяющего улучшить качество и продолжительность жизни.

**Задачи исследования.** Улучшить результаты лечения больных раком пищевода, осложненного дисфагией, совершенствованием алгоритма ведения, включающего флюоресцентную диагностику и фотодинамическую терапию.

**Материалы и методы.** Основа работы – наблюдение за результатами лечения 74 больных злокачественными новообразованиями пищевода и кардиального отдела желудка. Все пациенты проходили лечение (ФДТ) и дальнейшее обследование в Самарском областном онкологическом диспансере с 2003 по 2005 гг. Независимо от варианта диагноза, во всех наблюдениях заболевание сопровождалось опухолевой обтурацией. Применялся современный отечественный фотосенсибилизатор, разрешенный для широкого использования в России – фотогем. Перед фотодинамической терапией оценивали степень накопления препарата в опухоли, границы распространения опухоли с помощью установки для локальной спектрометрии – «Спектр – кластер». Проводилось одно- и многокурсовое лечение, с эндоскопическим контролем после ФДТ, повторные курсы получили 16 человек.

**Результаты.** Метод локальной спектрометрии показал высокую эффективность фотогема; во всех случаях, коэффициент накопления препарата в опухоли был достоверно выше по сравнению с неизменной слизистой пищевода (в 3 и более раз,  $p < 0,05$ ). Визуальная реакция опухоли наблюдалась в 100 % случаев в виде отека, инъекции сосудов опухоли, с развитием частичного некроза или полного лизиса опухоли на 15–20-е сут. Выраженность эндоскопического эффекта зависела от исходных размеров опухоли, предшествующего лечения и дозы полученного лазерного облучения. В 19 наблюдениях (25,6 %) наступило полное разрешение дисфагии, в 42 (56,7 %) – частичное разрешение, у 13 больных (17,5 %) – без эффекта. Более года наблюдаются 17 больных, среди них стойкая ремиссия с морфологически подтвержденным излечением в 9 случаях, остальные получают повторные курсы фотодинамической терапии.

**Выводы.** Методику флюоресцентной диагностики (локальной спектрометрии) можно признать эффективной и специфичной, рекомендовать как обязательный этап перед ФДТ как метод контроля уровня накопления фотосенсибилизатора. ФДТ позволяет достигать высокой степени реабилитации у больных злокачественными новообразованиями полых органов, осложненными опухолевой обтурацией. Изучается возможность применения различных режимов проведения ФДТ, возможность сочетания метода с другими вариантами противоопухолевого лечения.

М. А. Кортава<sup>1</sup>, Н. А. Оборотова<sup>1</sup>, Г. А. Меерович<sup>2</sup>,  
А. П. Полозкова<sup>1</sup>, Е. В. Игнатова<sup>1</sup>, О. Л. Орлова<sup>1</sup>,  
Э. Ш. Соломко<sup>1</sup>, А. Н. Инишаков<sup>1</sup>, А. Ю. Барышников<sup>1</sup>  
**ОЦЕНКА ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ  
АКТИВНОСТИ СТЕРИЧЕСКИ  
СТАБИЛИЗИРОВАННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ  
ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ И РАСТВОРА  
ФОТОСЕНСА НА КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ  
ЭПИДЕРМАЛЬНОГО РАКА КОЖИ А-431 IN  
VITRO**

<sup>1</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

<sup>2</sup>ЦЕНИ ИОФ им. А. М. Прохорова РАН, Москва

**Цель исследования.** Оценить противоопухолевую эффективность стерически стабилизированной лекарственной липосомальной формы фотосенса (ССЛЛФ) и раствора фотосенса на клеточной линии эпидермального рака кожи А-431 *in vitro*.

**Материалы и методы.** Субстанция фотосенса получена в ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», липиды предоставлены фирмой «Lipoid». Для получения липосомальной дисперсии на основе фосфатидилхолина и холестерина использовался метод Бенгема. Липосомы стерически стабилизировали, используя mPEG<sub>2000</sub>-DSPE. Контроль размера липосом проводили на приборе Submicron Particle Sizer NICOMP-380.

Облучение клеточных линий проводили через 24 ч после инкубации клеток с лекарственными формами фотосенса лазером ЛФТ-630/670-01-БИОСПЕК, мощность облучения 10 мВт/см<sup>2</sup>, время облучения – 10 мин. Фототоксический эффект исследовали на клеточной линии эпидермального рака кожи А-431 *in vitro*, с помощью МТТ-теста. Для каждой лекарственной формы строили график зависимости «доза-эффект» и определяли IC<sub>50</sub>.

**Результаты.** Для раствора фотосенса IC<sub>50</sub> достигалось при концентрации препарата 0,002 мг/мл, а для стерически стабилизированной лекарственной липосомальной формы – при концентрации фотосенса 0,001 мг/мл (р<0,05).

**Выводы.** Стерически стабилизированная лекарственная липосомальная форма фотосенса оказалась в 2 раза активнее, чем водный раствор фотосенса.

*Работа поддержана грантом Федерального государственного унитарного предприятия «Государственный научный центр «НИОПИК» (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК»»).*

Д. Г. Кочиев<sup>1</sup>, В. А. Голубева<sup>2</sup>, С. В. Зонтов<sup>2</sup>, А. В. Иванов<sup>2</sup>,  
О. К. Кожин<sup>3</sup>, А. В. Лукин<sup>3</sup>, М. В. Уткина<sup>2</sup>, О. В. Теодорович<sup>3</sup>  
**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ РАЗРАБОТКА  
МЕТОДА ИНТЕРСТИЦИАЛЬНОЙ ЛАЗЕРНОЙ  
КОАГУЛЯЦИИ ТКАНЕЙ ПОЧКИ И ПРОСТАТЫ  
ИЗЛУЧЕНИЕМ ТВЕРДОТЕЛЬНОГО ЛАЗЕРА  
В ИМПУЛЬСНО-ПЕРИОДИЧЕСКОМ РЕЖИМЕ**

<sup>1</sup>Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва

<sup>2</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

<sup>3</sup>РМАПО, Москва

Возможности лазерных технологий в настоящее время позволяют разработать метод лазерной внутритканевой коагуляции для лечения локализованных опухолей почки и простаты путем воздействия лазерным излучением на опухоль через пункционный доступ при наведении ультразвуковыми методами или с помощью компьютерной томографии. Конечной целью работы является прогнозирование объемов коагулированной ткани при лечении локализованных опухолей почки и предстательной железы.

В качестве источника излучения использован лазерный хирургический комплекс «ЛАЗУРИТ». В его состав входят 2 лазерных излучателя на основе иттрий-алюминиевого граната с неодимом с длинами волн 1079/539 нм (литотриптор) и 1064 нм (скальпель-коагулятор). Режим работы обоих лазеров – импульсно-периодический.

В качестве экспериментальных животных использовались собаки, беспородные кобели весом от 10 до 22 кг, возраст от 4 до 10 лет в количестве 10 голов. Доставка излучения и коагуляция тканей почки и простаты производилась волоконным катетером в режиме скальпеля-коагулятора. Длительность воздействия в одном подходе не превышала 10 с.

При работе на почках после выведения органа в область разреза по нормали к поверхности световодом в режиме скальпеля производился прокол оболочки органа на глубину 6–8 мм, после чего в режи-

ме коагуляции осуществлялось воздействие лазерным излучением на паренхиму при заранее выбранных параметрах (доза, средняя мощность). По окончании процедуры световод в отсутствие излучения выводился из ткани (органа). По такой же методике манипулировали и с простатой. При этом прокол оболочки одной из долей органа проводился вдоль уретры так, чтобы в процессе воздействия мочеиспускательный канал не был затронут.

Выбор режима воздействия осуществлялся в серии из 4 собак на основе анализа изменений в тканях через 3 суток после воздействия. Средняя мощность лазерного излучения с длиной волны 1,06 мкм на выходе волоконного катетера с диаметром кварцевой жилы 600 мкм составляла 20 Вт. Воздействие проводилось в режиме свободной генерации с частотой повторения импульсов 100 Гц, общее количество импульсов лазерного излучения в одном подходе составляло 1000, доза воздействия – 200 Дж. Выбранный режим воздействия проверялся на повторной серии экспериментальных животных. Получена динамика репаративных и адаптивных процессов в тканях при морфологическом исследовании препаратов сразу после воздействия, а также на 3-и, 7-е, 14-е и 35-е сут.

Выбранный режим воздействия и результаты морфологического анализа изменений в тканях могут служить основой для разработки клинических методик интерстициальной лазерной коагуляции локализованных новообразований почки и предстательной железы.

А. А. Красновский  
**ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕРАЦИИ И ТУШЕНИЯ  
СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА  
ФТАЛОЦИАНИНАМИ  
И БАКТЕРИОХЛОРИНАМИ: РЕЗУЛЬТАТЫ  
ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ ИЗМЕРЕНИЙ**

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

МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва

В последние годы высок интерес к исследованию производных фталоцианина и бактериохлорина в связи с их применением в фотодинамической терапии рака и других болезней. Преимущество этих соединений состоит в том, что они сочетают высокую фотосенсибилизирующую активность и способность эффективно поглощать свет в дальней красной и инфракрасной области спектра, который глубже проникает в ткани и может быть использован для уничтожения подкожных новообразований. Однако благодаря своим фотофизическим свойствам эти соединения обладают целым рядом особенностей, которые могут представлять интерес в связи с их применением для инициирования фотодинамических реакций. В качестве основного метода исследования мы использовали измерение различных видов замедленной люминесценции, возникающей при освещении насыщенных воздухом растворов этих соединений. Основными объектами служили бактериофеофитин а, тетра-третбутилфталоцианин без металла и его алюминийевый и цинковый комплексы, а также некоторые другие производные фталоцианина и нафталоцианина. Предполагается рассмотреть результаты тестирования фотосенсибилизирующей активности указанных соединений по регистрации собственной фосфоресценции синглетного кислорода при 1270 нм в органических средах и воде и влияние природы, концентрации и агрегации пигментов на этот процесс. Квантовый выход синглетного кислорода в насыщенных воздухом растворах этих соединений достаточно высок даже в тех случаях, когда триплетный уровень фотосенсибилизаторов несколько ниже синглетного уровня кислорода. Однако из-за низкой энергии триплетного уровня квантовый выход синглетного кислорода в растворах этих соединений гораздо сильнее зависит от концентрации кислорода, чем в растворах порфиринов и хлоринов. Особенность соединений этой группы состоит также в том, что многие из них обладают способностью эффективно тушить синглетный кислород, и это обстоятельство позволяет рассматривать их в качестве эффективных антиоксидантов. Механизм тушения тесно связан с другим процессом, характерным для этих соединений: способностью суммировать энергию 2 молекул синглетного кислорода и излучать ее в виде фотонов собственной флюоресценции. Последний процесс феноменологически связан с образованием димолей синглетного кислорода. Предполагается кратко обсудить механизмы этих эффектов.

*Автор благодарит РФФИ за поддержку работ в этом направлении.*

И. Ю. Кубасова<sup>1</sup>, З. С. Смирнова<sup>1</sup>, Л. Н. Борисова<sup>1</sup>,  
М. П. Киселева<sup>1</sup>, А. А. Вайнсон<sup>1</sup>, В. В. Мещерикова<sup>1</sup>,  
Н. Н. Касаткина<sup>1</sup>, Г. А. Меерович<sup>3</sup>, А. Ю. Барышников<sup>1</sup>,  
Е. А. Лукьянец<sup>2</sup>, Г. Н. Ворожцов<sup>2</sup>

### ЭФФЕКТИВНОСТЬ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ЛУЧЕВОЙ И ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЭПИДЕРМОИДНОЙ КАРЦИНОМЫ ЛЕГКОГО ЛЬЮИС МЫШЕЙ

<sup>1</sup>ГУ РОИЦ им. Н.Н.Блохина РАН, Москва

<sup>2</sup>ФГУП «ГНЦ»НИОПИК», Москва

<sup>3</sup>ЦЕНИ ИОФ им. А. М. Прохорова РАН, Москва

**Введение.** Сочетание лучевой терапии (ЛТ) и ФДТ при лечении опухолевых заболеваний широко изучается как в эксперименте, так и в клинике. Результаты сочетанного лечения зависят от ряда параметров, включая тип опухоли, дозу ионизирующего и лазерного облучения, последовательность и время воздействий.

**Цель исследования.** Оценить эффективность сочетанного применения ЛТ и ФДТ с использованием фотосенса на перевиваемой карциноме легкого Льюис (LLC) мышей.

**Материалы и методы.** LLC перевивали мышам-гибридам BDF1 в/м в голень. Учитывая побочное действие как ФДТ с фотосенсом, так и гамма-облучения на кожные покровы, в опытах использовали препарат в дозе, равной 1/2 терапевтической (2 мг/кг), доза лазерного облучения составляла 90 Дж/см<sup>2</sup>; доза гамма-облучения – 14,9 Гр, которые не вызывали реакции кожи мышей. ЛТ проводили на гамма-терапевтической установке АГАТ-Р. Лазерное облучение осуществляли лазером ЛФТ-630/670-01-БИОСПЕК с длиной волны 675 нм.

**Результаты.** Сочетанное воздействие с интервалом 3 ч ФДТ и ЛТ, проведенное через 24 ч после введения фотосенса, оказывало более длительное терапевтическое воздействие на LLC, чем отдельное лазерное или лучевое облучение. При таком режиме лечения LLC разницу в эффективности сочетанного применения ФДТ и ЛТ по сравнению с монотерапией выявили только на 17-й день после их воздействия. После сочетанного применения ФДТ→ЛТ торможение роста опухоли составляло 55 %, а ЛТ→ФДТ – 47 %; при применении ЛТ в монотерапии ТРО=36 %, лазерного облучения – 27 %. В начале лечения через 3 ч после введения фотосенса выявлено аддитивное противоопухолевое действие ФДТ и ЛТ (интервал между воздействиями – 3 ч): максимальное ТРО=73 %, после ФДТ ТРО=48 %, после ЛТ ТРО=48 %. Эффективность сочетанного воздействия ФДТ и ЛТ не зависела от последовательности терапевтических воздействий: ТРО составляло 73 % при ЛТ→ФДТ и 68 % – при ФДТ→ЛТ.

**Выводы.** На основании полученных экспериментальных данных можно рекомендовать сочетанное лечение злокачественных новообразований ФДТ и ЛТ с интервалом 3 ч независимо от последовательности этих терапевтических воздействий.

### В. Н. Курлов, Н. В. Классен, А. А. Асрян, И. А. Шкунова ПРОФИЛИРОВАННЫЕ КРИСТАЛЛЫ САФИРА ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Институт физики твердого тела РАН, Черноголовка

В ИФТТ РАН разработаны технологии выращивания кристаллов сафира заданного профиля, которые представляют собой весьма обширную совокупность технологических, конструкторских, материаловедческих разработок и «ноу-хау», позволяющих выращивать непосредственно из расплава сапфировые изделия заданной формы, в том числе достаточно сложной, которые нельзя сделать механической обработкой.

Кристаллы сафира обладают уникальным сочетанием физико-механических и оптических свойств: хорошим пропусканием в широком спектральном диапазоне, высокими термостойкостью, твердостью, прочностью и теплопроводностью. Уникальная химическая инертность к крови и тканям человека, в том числе электролитическая пассивность, биосовместимость, коррозионная стойкость делают сапфир эффективным заменителем кварца и других материалов, используемых в медицине (имплантологии, хирургии и медицинском приборостроении). Особый интерес могут представлять лазерные световоды (в том числе совмещенные со скальпелем), защитные чехлы малых диаметров, катетеры и т.д.

Одно из перспективных направлений использования профилированных кристаллов сафира – фотодинамическая терапия с использованием лазерного излучения (специально подобранного для каждого из типов фотосенсибилизаторов). Терапевтическое воздействие может проводиться через сапфировые волоконно-оптические световоды, осуществляющие доставку лазерного излучения к внутренним органам и тканям, в том числе в виде рольгил или катетеров, существенно увеличивающих глубину доставки излучения и улучшающих направленность воздействия.

В качестве защитных чехлов могут эффективно использоваться сапфировые баллоны различной длины и конфигурации. Сапфировые волокна помещаются в сапфировые наконечники (внешний диаметр – 2 мм, внутренний – 0,6 мм, длина 10 мм) с полусферическим торцом.

С. Н. Курченко, В. Е. Каземирский, Т. В. Хаймина,  
М. Г. Дудин

### ПРИМЕНЕНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ПРЕПАРАТОМ ФОТОДИТАЗИН ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ДЕГЕНЕРАТИВНО-ДИСТРОФИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ОПОРНО-ДИВГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

ГУЗ Восстановительный центр детской ортопедии и травматологии «ОГОНЕК», Санкт-Петербург

**Введение.** В патогенезе дегенеративно-дистрофических заболеваний ОДА у детей и подростков одно из ключевых – нарушение кровообращения, приводящее к гипоксии в очаге поражения. Она, в свою очередь, обуславливает прогрессирующее развитие клинической картины. Одним из методов нормализации не только кровообращения в зоне поражения, но и восстановления кислотно-щелочного баланса, может послужить фотодинамическая терапия с препаратом фотодитазин. Принцип действия указанного метода заключается в выделении большого количества синглетного кислорода при активации препарата лазерным излучением.

**Цель исследования.** Разработать методику применения препарата фотодитазин для лечения дегенеративно-дистрофических заболеваний ОДА у детей и подростков.

**Задачи исследования.** Оценить эффективность использования фотодитазина.

**Материалы и методы.** Фотодитазин, аппарат лазерный «АТКУС-2» (длина волны 663 нм, мощность 2 Вт), компьютерный тепловизионный комплекс «РАДУГА».

В работе использованы результаты лечения 10 пациентов с дегенеративно-дистрофическими заболеваниями ОДА различных локализаций и степени тяжести: идиопатический и посттравматический асептический некроз головки бедра, диспластический коксартроз, остеохондропатия бугристости большеберцовой и пяточной костей, остеохондропатия апофизов тел позвонков. Всем пациентам до проведения ФДТ проводились: сбор жалоб и анамнеза, клинический осмотр, развернутый анализ крови, ультразвуковое и рентгенологическое исследования, термография области поражения.

Клиническая картина у всех пациентов была типична для каждой локализации поражения. Ведущие симптомы: болевой, ограничение движений в той или иной степени, локальная гипотрофия мышечной ткани. Результаты инструментальных методов исследования полностью соответствовали характеру заболевания. У 2 пациентов основной диагноз был отягощен сопутствующим синовитом. У всех детей отмечалось снижение локальной температуры в области поражения.

Этим пациентам проводилась 1 процедура фотодинамической терапии с препаратом фотодитазин на гелевой основе. На кожу в области поражения наносился гель фотодитазин из расчета 0,1 мл на 1 см<sup>2</sup>, 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 300 Дж/см<sup>2</sup>.

**Результаты.** Эффективность лечения оценивалась по результатам клинического, тепловизионного и ультразвукового исследований. Оказалось, что температура над зоной поражения нормализуется, явления синовита исчезают, купируется болевой синдром, увеличивается объем безболезненных движений в суставах.

**Выводы.** Первые результаты применения препарата фотодитазин в детской ортопедии позволяют видеть перспективность указанного

метода для лечения дегенеративно-дистрофических заболеваний опорно-двигательного аппарата у детей и подростков. Также считаем необходимым более глубокое изучение механизмов действия препарата и уточнение методики его применения.

*Т. С. Лагода, М. А. Каплан*

### ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА МЕЛКИХ ЖИВОТНЫХ С ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ P388

*ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск*

**Цель исследования.** Показать возможности фотодинамической терапии в модельных опытах на лабораторных лейкозных мышах с использованием препарата Димигин.

**Материалы и методы.** Эффективность лечения оценивали по показателям роста опухоли, выживаемости, результатам вскрытия.

Препарат Димигин в дозе 5–10 мг/кг вводили однократно в/в на 6-й день после перевивки лимфолейкоза P388 в область бедра и в/бр асцитной жидкостью – 1000000 кл.

Для проведения ФДТ использовали источник света с длиной волны 630 нм и выходной мощностью 50 Вт. Экспозиция внутривенного облучения – 2 и 3 мин с 30-с перерывом.

**Результаты.** При использовании такого критерия, как прирост массы тела, нами установлено увеличение массы на 13 % у контрольных животных. Эти данные включали увеличенные в размерах печень и селезенку. Размеры опухолевых узлов достигали 800–900 мм<sup>3</sup>. На 10-е сут животные погибли.

Фотодинамическая терапия (доза препарата Димигин – 5 мг/кг) увеличивала продолжительность жизни на 30 % животным с перевитым лимфолейкозом в бедро. Доза препарата 10 мг/кг при ФДТ на 57 % продлевала продолжительность жизни мышам с перевитым в/бр асцитом лимфолейкоза, не влияла на прирост массы тела и предотвращала поражения печени и селезенки. При вскрытии эти органы были без изменений.

*К. Г. Линьков<sup>1</sup>, С. А. Шевчик<sup>1</sup>, Г. А. Меерович<sup>1</sup>,  
А. А. Стратонов<sup>1</sup>, Т. А. Савельева<sup>1</sup>, В. В. Волков<sup>1</sup>,  
А. И. Волкова<sup>1</sup>, С. Г. Кузьмин<sup>2</sup>, В. Б. Лоценов<sup>1</sup>,  
Г. Н. Ворожцов<sup>2</sup>*

### ЛАЗЕРНАЯ, ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ, ОПТИКО-СПЕКТРАЛЬНАЯ И ВИДЕОАППАРАТУРА ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ И ДИАГНОСТИКИ НОВООБРАЗОВАНИЙ

*<sup>1</sup>ЦНИ ИОФ им. А. М. Прохорова РАН, Москва*

*<sup>2</sup>ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва*

Аппаратура для флюоресцентных и оптико-спектральных исследований получила широкое распространение в современных методах диагностических исследований новообразований. Важнейшую роль играет аппаратное оснащение и в методе фотодинамической терапии. В настоящей работе рассматриваются новая техника для диагностики и фотодинамической терапии, освоенная в производстве либо разрабатываемая в настоящее время на основе новых технических решений.

Лазерная аппаратура для фотодинамической терапии. Разработаны, получили всю необходимую сертификационную документацию и успешно эксплуатируются более, чем в 50 отечественных клиниках и нескольких десятках научных центров за рубежом, лазерные терапевтические аппараты «ЛФД-630/675-01-Биоспек». Они предназначены для ФДТ с использованием всех разрешенных в Российской Федерации фотосенсибилизаторов (аласенса, фотогема, фотосенса, фотосенсибилизаторов хлоринового ряда). В настоящее время начинается сертификация лазерных терапевтических аппаратов «ЛФД-690/730-01-Биоспек» для ФДТ с фотосенсибилизаторами нового поколения и аппаратов «ЛФД-800-01-Биоспек», предназначенных для лазерной гипертермии терапии новообразований больших объемов. Аппаратура комплектуется широкой гаммой эндоскопических устройств для поверхностного, внутрисполостного и внутритканевого облучения.

Аппаратура для локальной флюоресцентной спектроскопии и спектроскопии диффузного рассеяния на основе спектроанализатора «ЛЭСА-01-Биоспек» предназначена для количественного определе-

ния концентрации фотосенсибилизаторов и ряда других препаратов для онкологической диагностики и терапии, степени оксигенации крови в микроциркуляторном русле и проведения других исследований, имеющих важное значение для онкологической диагностики и повышения эффективности противоопухолевой терапии. Аппаратура имеет необходимую сертификационную документацию.

Видеофлюоресцентная спектрально-селективная аппаратура различных модификаций с ламповыми лазерными источниками возбуждающего излучения предназначена для использования в составе различных диагностических устройств (эндоскопов, лапароскопов, кольпоскопов, цистоскопов, стоматологических и офтальмологических приборов). В настоящее время проходит клинические испытания в ряде ведущих московских клиник.

*В. Г. Лихванцева, О. Ю. Мерзлякова, С. Г. Кузьмин,  
Г. Н. Ворожцов*

### АДЬЮВАНТНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ ФТАЛОЦИАНИНОВОГО РЯДА ПРИ ТЕРМОТЕРАПИИ УВЕАЛЬНЫХ МЕЛАНОМ С ПРИМЕНЕНИЕМ ИНФРАКРАСНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

*ГУ НИИ глазных болезней РАМН, Москва*

*ГУП МНКЦ «ИнтермедБиофизхим», Москва*

*ЦНИ институт общей физики им. А. М. Прохорова РАН, Москва*

**Введение.** Термотерапия (ТТ) – один из перспективных современных методов лечения увеальных меланом (УМ). Он появился в арсенале офтальмоонкологов в середине 90-х гг. XX века. Его возможности несколько уступают брахитерапии. Вместе с тем метод имеет ряд преимуществ перед последней. Это неинвазивность, возможность повторения сеансов ТТ, сокращение постлучевых осложнений за счет большей избирательности воздействия. Указанные моменты привлекают внимание специалистов и придают особую актуальность поиску способов усиления биологических эффектов ТТ.

**Цель исследования.** Изучить возможности ТТ на фоне введения фотосенсибилизатора (ФС) фталоцианинового ряда фотосенса.

**Материалы и методы.** ТТ на фоне внутривенного введения фотосенса (0,3 мг/кг веса) проводили 13 пациентам с остаточными УМ после ранее проведенного лечения (брахитерапии или традиционной транспупиллярной ТТ). Облучали на диодном инфракрасном лазере с длиной волны 810 нм (фирма IRIDEX, США). Мощность лазерного воздействия варьировала от 250 до 1100 мВт и зависела от высоты опухоли, характера пигментации, близости к диску зрительного нерва. Экспозиция составляла 60 с. Диаметр светового пятна в фокальной плоскости колебался от 600 до 3000 мкм, размеры опухолей – в высоту от 1,5 мм до 6,0 мм, а в диаметре от 5,0 до 17,0 мм, сроки наблюдения – от 3 мес до 1,5 лет.

**Результаты.** У всех пациентов отмечали положительный эффект в виде побеления опухоли к концу сеанса и полной или частичной регрессии к концу срока наблюдения. Мощность светового воздействия, при которой лечебный эффект наблюдали, была более, чем на 30 %, ниже той, что использовали ранее. Эффективность ТТ на фоне фотосенса на 30 % была выше, чем при традиционной ТТ. При этом регрессии подвергались УМ, резистентные к традиционной ТТ. Снижение мощности светового воздействия позволяло избегать осложнений, связанных с эффектами ТТ – преретинальному фиброзу стекловидного тела и нейроретинопатии.

**Выводы.** Эффективность ТТ на фоне внутривенного введения фотосенса превышает эффективность традиционной транспупиллярной ТТ, что позволяет предположить наличие собственного адьювантного потенциала у ФС. ФС позволяет снизить мощность лазерного воздействия и избежать осложнений, связанных с эффектами гипертермии.

*В. Г. Лихванцева, О. Ю. Мерзлякова, М. В. Верещагина,  
М. А. Петренко, В. В. Волков, С. Г. Кузьмин, Г. Н. Ворожцов*

*ГУ НИИ глазных болезней РАМН, Москва*

*ГУП МНКЦ «ИнтермедБиофизхим», Москва*

*ЦНИ институт общей физики им. А. М. Прохорова РАН, Москва*

**Введение.** Своды век – одна из наиболее распространенных локализаций при лимфопрлиферативных процессах и опухолях эпителиального происхождения. Быстрое распространение в орбиту опухолей сводов диктует необходимость применения таких жестких методов лечения, как дистанционная гамма-терапия (ДГТ). Однако если эффективность ДГТ не вызывает сомнений, то широкий спектр осложнений со стороны глаза заставляет скептически относиться к целесообразности его применения. Это обосновывает поиск эффективных рациональных методов лечения опухолей этой локализации. Фотодинамическая терапия (ФДТ) – одна из перспективных технологий, которые могут быть пригодны для них.

**Цель исследования.** Раскрыть возможности и разработать способы ФДТ при опухолях сводов.

**Материалы и методы.** ФДТ проводили на фоне местной анестезии 1%-ным раствором дикаина у 2 пациентов с лимфомой сводов ( $n=3$ , в 1 случае была билатерализация процесса) спустя 48–72 ч после внутривенного введения фотосенса (0,3 мг/кг веса). Источником лазерного излучения служил диодный лазер с длиной волны 675 нм. Облучали 2 различными способами. В 1 случае ФДТ проводили с помощью оптического волокна-световода диаметром 1 мм, предназначенного для транссклеральной циклопексии. Расходящийся пучок света направляли перпендикулярно поверхности опухоли, формируя диаметр светового пятна адекватно размерам основания опухоли в сводах. Световая доза при облучении достигала 300 Дж/см<sup>2</sup> при экспозиции 300 с. Во втором случае ФДТ проводили на 2 глазах с помощью специального световода, представляющего собой кварцевое волокно, вставленное в отверстие иглы размерами 0,8 × 40 мм. Иглу проводили вдоль свода интракорпорально, при этом световой поток рассеивался на глубине 4–5 мм в опухоли и в стороны, образуя пятно диаметром 6–10 мм. Средняя плотность мощности на глубине 2–3 мм от иглы составляла, как и в предыдущем случае, 300 Дж/см<sup>2</sup>. Глаз защищали от лазерного излучения в ходе ФДТ специальным щитком.

**Результаты.** Регрессия опухолей отмечена на всех 3 глазах. Однако в 1-м случае она происходила медленно, а спустя 4 мес имел место локальный рецидив. Во 2-м случае полная регрессия опухоли произошла в короткие сроки (3 нед) со стойким продолжительным эффектом.

**Выводы.** ФДТ может быть предложена для лечения опухолей сводов век как альтернатива ДГТ. При опухолях сводов век интракорпоральная методика ФДТ предпочтительнее бесконтактного лазерного воздействия расходящимся пучком света.

*О. В. Макаров, А. З. Хаичукова, О. Б. Отдельнова*  
**ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ  
 ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ  
 ЭНДОМЕТРИЯ  
 С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ  
 ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА ФОТОДИТАЗИН**

*Российский государственный медицинский университет, Москва*

**Введение.** Проблема лечения гиперпластических процессов эндометрия (ГПЭ) относится к одному из актуальных разделов современной гинекологии ввиду высоких показателей заболеваемости. На протяжении последних десятилетий было предложено большое количество различных медикаментозных и малоинвазивных хирургических методов лечения. Тем не менее наличие рецидивов, развитие неблагоприятных побочных эффектов и осложнений заставляет искать новые, более эффективные и менее травматичные методы лечения. Одним из таких перспективных направлений является фотодинамическая терапия (ФДТ) – метод, основанный на использовании фотодинамического повреждения клеток в ходе фотохимических реакций.

**Цель исследования.** Изучение возможностей метода ФДТ с использованием фотосенсибилизатора (ФС) фотодитазин в лечении ГПЭ.

**Материалы и методы.** Фотодинамическая деструкция эндометрия была выполнена 24 пациенткам пери- и постменопаузального периода в возрасте от 45 до 55 лет (средний возраст – 51,7±2,4 года) с морфологически верифицированным диагнозом железистой гиперплазии у 9 (37,5%), железисто-кистозной гиперплазии эндометрия у 15 (62,5%) больных. Сопутствующая экстрагенитальная патология была представлена как в изолированном варианте, так и в виде соче-

тания различных нозологических форм. Наиболее часто встречались гипертоническая болезнь (у 12 больных), варикозная болезнь нижних конечностей (у 18), сахарный диабет II типа у 4, ишемическая болезнь сердца и метаболический синдром были выявлены с одинаковой частотой у 5 женщин. Предоперационное обследование пациенток с ГПЭ было стандартно и включало ультразвуковое исследование органов малого таза, гистероскопию с раздельным диагностическим выскабливанием и последующим гистологическим исследованием полученного материала, а также обследование шейки матки.

С целью выбора наиболее оптимальных временных параметров облучения была исследована динамика накопления ФС фотодитазин («Вета-гранд», Россия) в ткани эндометрия *in vivo*. Для решения этой задачи мы применили локальную флюоресцентную спектроскопию с использованием спектрально-флюоресцентной диагностической установки «Спектр-Кластер» («Кластер», ИОФРАН). Флюоресцентное детектирование эндометрия осуществлялось до введения ФС (оценка эндогенной флюоресценции) и через 30; 60; 90; 120 и 160 мин после внутривенного введения ФС (экзогенная флюоресценция тканей). В ходе спектрально-флюоресцентных исследований было определено, что до введения ФС эндогенная флюоресценция эндометрия ничтожно мала, в то время, как во все сроки после введения ФС его экзогенная флюоресценция достоверно выше, а спектр излучения ткани идентичен спектру флюоресценции фотодитазина. Максимальные значения флюоресценции регистрировались в ткани эндометрия через 1,5–2 ч после введения ФС.

Сеанс облучения эндометрия осуществлялся на аппарате «Аткус-2» (длина волны 662 нм, мощность на выходе 1,85 Вт) через 1,5–2 ч после внутриматочного и/или внутривенного введения ФС фотодитазин в дозе 0,5 мг/кг с использованием оптического внутриматочного баллонного световода («Полироник», Россия) без применения анестезиологического пособия. Расширения цервикального канала не требовалось, что было обусловлено небольшим диаметром (3 мм) баллонного световода, проводимого через цервикальный канал. После введения в полость матки баллон заполняли стерильным раствором дистиллированной воды в количестве 3,5 мл для принятия им треугольной формы, соответствующей анатомической форме полости матки, с целью равномерного распределения лазерного излучения. Световое воздействие проводили в непрерывном или фракционном режиме, длительность облучения составила 15–40 мин, при плотности энергии 150–300 Дж/см<sup>2</sup>.

**Результаты.** С целью оценки ФДТ эндометрия проводилось ультразвуковое исследование срединных маточных структур на 7-е, 30-е сут после процедуры, а также через 3; 6 и 12 мес после операции. Показатель М-эхо на 7-е сут варьировал в пределах от 4 до 6 мм, что, вероятно, можно объяснить отеком тканей. Вместе с этим на 30-е сут во всех наблюдениях отмечено линейное М-эхо. Через 6 мес М-эхо составило от 2 до 4 мм в 83,3% случаев. У 2 пациенток имел место рецидив ГПЭ в сроки от 2 до 6 мес, что потребовало повторной процедуры ФДТ. У 11 пациенток прослежены отдаленные результаты лечения в сроки до 12 мес. У всех у них наблюдалась стойкая аменорея на фоне линейного М-эхо по данным ультразвукового исследования срединных маточных структур. Диагностическая гистероскопия выполнялась через 12 мес после процедуры. Гистероскопическая картина была представлена атрофией эндометрия на фоне отсутствия облитерации полости матки. Побочные эффекты были отмечены в 14 наблюдениях и заключались в слабо и умеренно выраженном болевом синдроме во время и непосредственно после сеанса ФДТ, что потребовало назначения ненаркотических анальгетиков в течение 12 ч после операции. В 3 случаях имело место повышение температуры до субфебрильных цифр на 2-е сут после операции, что потребовало профилактической антибактериальной терапии.

**Выводы.** Фотодинамическая деструкция эндометрия обладает рядом преимуществ в сравнении с другими малоинвазивными хирургическими методами, в частности, позволяет высокоселективно удалять функциональный и базальный слои слизистой оболочки матки, не приводя впоследствии к облитерации полости матки. Кроме этого, методика проведения процедуры не требует анестезиологического пособия, что делает возможным ее использование в амбулаторных условиях, что особенно важно у пациенток,отягощенных различной экстрагенитальной патологией, являющейся противопоказанием к гормональному или хирургическому лечению.

И. Г. Меерович<sup>1</sup>, М. А. Грин<sup>2</sup>, А. Г. Ципровский<sup>2</sup>,  
Г. А. Меерович<sup>3</sup>, Н. А. Оборотова<sup>1</sup>, В. Б. Лощенов<sup>3</sup>,  
А. Ю. Барышников<sup>1</sup>, А. Ф. Миронов<sup>2</sup>

### ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫЙ ИНФРАКРАСНЫЙ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОР НА ОСНОВЕ БАКТЕРИОХЛОРОФИЛЛА А

<sup>1</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

<sup>2</sup>Московская государственная академия тонкой химической техно-  
логии им. М. В. Ломоносова, Москва

<sup>3</sup>ЦЕНИ институт общей физики РАН, Москва

Для природного бактериохлорофилла *a* и его производных характерно интенсивное поглощение в ближней ИК-части спектра в интервале 760–830 нм, что позволяет рассматривать эти соединения в качестве перспективных фотосенсибилизаторов (ФС) для фотодинамической терапии (ФДТ) рака, особенно для пигментированных новообразований и опухолей большого объема.

В настоящей работе изучено одно из соединений этого ряда – метиловый эфир оксима N-метоксицикломида бактериохлорина *p* (ФС-1) с интенсивной Q-полосой при 805 нм.

Исследуемый бактериохлорин был получен по ранее разработанной методике. Для инъекций бактериохлорин солюбилизировался с помощью кремофора. Были использованы мыши F<sub>1</sub> с опухолью Эрлиха (ELD), перевитой внутримышечно, и подкожно перевитым лимфолейкозом P388 через 5 дней после перевивки, а также мыши BDF<sub>1</sub> с перевитой внутримышечно меланомой B16 через 7 дней после перевивки. Для ФДТ использовался лазер «ЛФД-800-01-Биоспек» с длиной волны излучения 797 нм, для исследования *in vivo* поглощения ФС-1 в биологической ткани, оценки динамики и селективности его накопления в опухоли – метод спектроскопии диффузного рассеяния.

При исследованиях на животных было показано, что спектральный максимум полосы поглощения бактериохлорина в опухоли лежит в диапазоне 790–795 нм. ФС обладает невысокой селективностью накопления в опухоли, не превышающей 1,5–2. Максимальная концентрация ФС в опухоли достигается в интервале 10–90 мин от момента введения. Из нормальной ткани ФС выводится достаточно быстро, за 5–8 ч его концентрация спадает до пределов возможности аппаратного контроля. ФДТ на всех используемых моделях опухолей проводилась через 10–15 мин после введения в течение 20 мин при плотности мощности 300 мВт/см<sup>2</sup>, доза облучения составляла 360 Дж/см<sup>2</sup>. При этом на мышках F<sub>1</sub> с опухолью Эрлиха (ELD) и лимфолейкозом P388 были достигнуты значения коэффициента торможения роста опухолей более 80 %, а на мышках BDF<sub>1</sub> с меланомой B16 превысили 90 %. Увеличение продолжительности жизни мышей BDF<sub>1</sub> с меланомой B16 после ФДТ составило 61 %.

Метиловый эфир оксима N-метоксицикломида бактериохлорина *p* является высокоэффективным инфракрасным фотосенсибилизатором.

Работа канд. биол. наук И. Г. Мееровича поддержана грантом Президента Российской Федерации для молодых ученых-кандидатов наук МК-6258.2006.4.

### А. А. Михайловская, Н. В. Бурмистрова, М. А. Каплан СОЧЕТАННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО ЛИЗИСА И ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

ГУ медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск

**Цель исследования.** Изучение возможности сочетания электрохимического лизиса (ЭХЛ) и фотодинамической терапии (ФДТ) для достижения полной резорбции саркомы М-1 у крыс при использовании минимальных параметров обоих методов.

**Материалы и методы.** Исследования были проведены на 32 беспородных крысах массой 175–200 г с перевитой подкожно саркомой М-1. Опытные животные были разделены на 4 группы: 1-я – ЭХЛ через сутки фотолон в дозе 2,5 мг/кг через 30 мин ФДТ (6 крыс); 2-я – фотолон в дозе 2,5 мг/кг через 10 мин ЭХЛ через 10 мин ФДТ (11 крыс); 3-я – ЭХЛ сразу внутритканевое введение фотолон в дозе 2,5 мг/кг (8 крыс) с последующей ФДТ; 4-я – контроль (9 крыс). Фотолон вводили однократно внутривенно в дозе 2,5 мг/кг или обкалывали опухоль из расчета ½ объема. ФДТ проводили однократно на лазерном терапевтическом аппарате «Аткус-2» P<sub>5</sub>=0,54 Вт/см<sup>2</sup>, λ 662 нм, E 300 Дж/см<sup>2</sup>. Диаметр поля облучения во всех случаях составлял 2 см. ЭХЛ проводили на аппарате «Soring». Электроды вводили в

опухоль горизонтально под основание на расстоянии друг от друга 10 мм. Заряд между электродами в ткани составлял 12 Кл.

**Результаты.** Исследование динамики накопления фотолон в опухоли и здоровой ткани показало, что накопление препарата зависит от интервала времени и последовательности проведения ЭХЛ и введения фотолон. При введении фотолон за 20–30 мин до ЭХЛ наблюдали значительное накопление сенсибилизатора в тканях, в то время, как введение ФС после проведенного ЭХЛ вне зависимости от временного интервала не приводит к достаточному накоплению препарата в тканях. Максимальное накопление фотолон в опухолевой ткани по отношению к здоровой отмечали через 1 ч после введения препарата. Таким образом, экспериментальное исследование необходимо строить по следующей схеме: введение фотолон, через 20–30 мин ЭХЛ и фотодинамическая терапия опухоли через 1 ч после введения ФС. Предложенные схемы лечения статистически значимо снижают прирост саркомы М-1 на всех сроках наблюдения. Процент полной регрессии опухоли при проведении ЭХЛ за сутки до введения фотолон с последующей через 30 мин ФДТ к концу срока наблюдения составил 60 %. Введение фотолон за 10 мин до ЭХЛ с последующей через 30 мин ФДТ приводит к полной резорбции саркомы в 100 % случаев. При внутритканевом введении фотолон полную регрессию опухоли отмечали только в 33 % случаев. Однако коэффициент абсолютного прироста опухоли статистически достоверно ниже коэффициента контрольной группы. Такой результат, очевидно, вызван неравномерным распределением препарата в ткани, в связи с этим наблюдали продолженный рост опухоли.

**Выводы.** Таким образом, сочетание ЭХЛ и ФДТ позволяет добиться полной резорбции опухолевого узла при использовании минимальных параметров обоих методов.

Н. Б. Морозова<sup>1</sup>, А. Д. Плютинская<sup>1</sup>, Р. И. Якубовская<sup>1</sup>,  
Т. А. Кармакова<sup>1</sup>, А. В. Феофанов<sup>3</sup>, В. И. Чиссов<sup>1</sup>,  
Е. А. Лукьянец<sup>2</sup>, В. М. Негримовский<sup>2</sup>, О. А. Южакова<sup>2</sup>,  
Г. Н. Ворозцов<sup>2</sup>

### ПОЛОЖИТЕЛЬНО ЗАРЯЖЕННЫЕ ФТАЛОЦИАНИНЫ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ АГЕНТЫ ДЛЯ ФДТ

<sup>1</sup>ФГУ «МНИОИ им. П. А. Герцена Росздрава», Москва

<sup>2</sup>ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва

<sup>3</sup>Институт биоорганической химии им. акад. М. М. Шемякина  
и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва

**Цель исследования.** Изучение *in vitro* и *in vivo* фотондуцированной активности холиновых производных фталоцианина цинка.

**Материалы и методы.** Использовались следующие положительно заряженные производные фталоцианина цинка: PzZn(CH<sub>2</sub>NMe<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NMe<sub>2</sub>)<sub>8</sub>Cl<sub>8</sub>-октакис(N-(2-диметиламино)этил-N,N-диметиламмонийметил) фталоцианин цинка октахлорид (PzZnR1); PzZn((CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH))<sub>3</sub>)<sub>8</sub>Cl<sub>8</sub>-октакис(N,N,N-трис(2-гидроксиэтил)аммонийметил) фталоцианин цинка октахлорид (PzZnR2); PzZn(CH<sub>2</sub>NMe<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NMe<sub>2</sub>)<sub>8</sub>Cl<sub>8</sub>I<sub>8</sub>-октакис(N-(2-триметиламмоний)этил)-N,N-диметиламмонийметил) фталоцианин цинка октахлорид октаиодид (PzZnR3); ZnPcHolm<sub>8</sub> – октакис[N-(2-гидроксиэтил)-N,N-диметиламмонийметил] фталоцианин цинка октахлорид (PzZnR4).

*In vitro* эксперименты были выполнены на культуре опухолевых клеток человека: эпидермоидной карциноме гортаноглотки человека (Hep2).

Оценку выживаемости клеток проводили как визуально, отмечая с помощью световой микроскопии морфологические изменения клеток, так и колориметрическим методом с использованием МТТ-теста. Биологически значимым эффектом считали ингибирование роста клеток в культуре более, чем на 50 %.

*In vivo* эксперименты были выполнены на мышках с опухолями различного гистогенеза: (LLC, S37, B16, C26). Распределение красителя в органах и тканях изучали методом локальной спектрофлуориметрии (органы и ткани) и конфокальной микроскопии (внутри ткани). ФДТ проводили на 6–7-й день роста опухоли при облучении светодиодным источником (λ<sub>max</sub>=685 нм). Критериями оценки противоопухолевого эффекта ФДТ являлись торможение роста опухоли (ТРО), увеличение продолжительности жизни (УПЖ) и критерий излеченности (Ки).

**Результаты.** Все изученные положительно заряженные производные фталоцианина цинка были активны в системе *in vitro*: ИК<sub>50</sub> варьировалась от 0,69±0,4μМ до 0,2±0,1μМ. Фотоактивность увеличивалась в ряду: ZnPcR4>PcZnR3>PcZnR1>PcZnR2. Холиновое производное PcZnR4, названное холосенс, обладало лучшими фотобиологическими, физическими, химическими свойствами. Оно было изучено в системе *in vivo*. Опухоли C26, LLC, S37 и B16 в одинаковой степени накапливали PcZnR4. Максимальное значение Фн зависит от времени после введения. Во всех опухолях Фн PcZnR4 увеличивается в течение 30 мин, а затем достаточно быстро снижается. У животных с перивисными опухолями различного генеза установлена высокая противоопухолевая эффективность при использовании оптимальной дозы и интервала Δt (ТРО 51,4–98,6 %, УПЖ 7,3–91,4 %, Ки 0–66,7 % в зависимости от опухоли). Методом КОМИРСИ показано, что холосенс быстро и эффективно проникает в опухолевый узел (LLC). Его накопление в опухолевых клетках выше, чем в нормальном эпидермисе и мышце, однако ниже, чем в стенке кровеносных сосудов в первые минуты после введения.

**Выводы.** Холиновое производное фталоцианина цинка – перспективный фотосенсибилизатор для дальнейшего изучения и разработки на его основе препарата для ФДТ.

*В. Е. Олюшин, А. В. Комфорт, А. Ю. Улитин*

### НОВЫЙ СПОСОБ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

*Российский нейрохирургический институт  
им. проф. А. Л. Поленова, Санкт-Петербург*

**Задачи исследования.** Фотодинамическая терапия – признанный способ лечения глиом головного мозга. Недостатком метода является то обстоятельство, что основная часть клеток перифокальной области глиом, являющаяся непосредственным объектом фотодинамической терапии, в силу особенностей метаболизма находится в условиях гипоксии, а эффект воздействия находится в прямой зависимости от концентрации кислорода в биологической среде. Изучался эффект фотодинамической терапии в условиях контролируемой гипероксии.

**Материалы и методы.** Проведен анализ результатов лечения 15 больных доброкачественными и злокачественными глиомами полушарий большого мозга, которым применялась фотодинамическая терапия с использованием фотосенсибилизатора фотодитазин (0,5 мг/м<sup>2</sup>) на фоне контролируемой гипероксемии. Последняя достигалась к моменту облучения ложа опухоли (150 Дж/см<sup>2</sup>) за счет увеличения парциального напряжения кислорода во время искусственной вентиляции легких. Источником облучения служил полупроводниковый лазер «Аткус-2» мощностью до 2 Вт и длиной волны излучения 660 нм. Контрольную группу составили 20 больных, которым фотодинамическая терапия проводилась по стандартной методике (без гипероксемии).

**Результаты.** У больных с доброкачественными глиомами (7 человек) на протяжении периода наблюдения (35 мес) рецидивов не отмечено. Среди 8 пациентов со злокачественными глиомами (глиобластома, анапластическая астроцитома) безрецидивный период был на 2 мес длиннее, чем в контрольной группе.

**Выводы.** Фотодинамическая терапия в сочетании с искусственной контролируемой гипероксемией – более эффективный способ, чем стандартный вариант методики, и может занять свое место в комплексной терапии не только опухолей головного мозга, но и более широкого спектра онкологических заболеваний.

### В. Е. Олюшин, А. В. Комфорт, А. Ю. Улитин КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ БОЛЬНЫХ ГЛИОМАМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ОТЕЧЕСТВЕННЫМ ПРЕПАРАТОМ ФОТОДИТАЗИН

*Российский нейрохирургический институт  
им. проф. А. Л. Поленова, Санкт-Петербург*

**Задачи исследования.** Результаты лечения глиом головного мозга остаются неудовлетворительными. Фотодинамическая терапия является одним из компонентов их комплексной терапии. Изучались результаты нового интраоперационного способа фотодинамического лечения глиом с применением фотосенсибилизатора фотодитазин. Сущность способа заключается в поэтапном фокусированном облучении пораженных участков мозга на отдалении от основного узла после облучения ложа опухоли рассеянным лазерным пучком.

**Материалы и методы.** Проведен анализ результатов лечения 47 больных глиомами полушарий большого мозга за период 2001–2006 гг. Возраст пациентов колебался от 19 до 65 лет. Мужчин было 25, женщин – 22. 1-я группа (n=30) включала больных с первичными глиомами различной степени анаплазии; 2-ю группу (n=17) составили пациенты с продолженным ростом глиом, оперированные повторно. В качестве фотосенсибилизатора использовался отечественный препарат группы хлоринов еб 2-го поколения фотодитазин в дозе 50 мг. Источником облучения служил опытный образец полупроводникового лазера «Аткус-2» мощностью до 2Вт и длиной волны излучения 660 нм.

**Результаты.** Длительность безрецидивного периода для больных с первичными доброкачественными глиомами составила 52±5,5 мес, для больных со злокачественными глиомами – 22,5±3,8 мес. У пациентов с продолженным ростом доброкачественных глиом безрецидивный период был 35,2±3,2 мес, анапластических – 11,8±2,3. Уровень качества жизни за период наблюдения равнялся 80–90 баллам по шкале Карновского.

**Выводы.** Фотодинамическая терапия – эффективный, безопасный и доступный метод в комплексном лечении глиальных опухолей, позволяющий увеличить безрецидивный период заболевания при удовлетворительном качестве жизни больных.

### В. Ю. Петровский, В. А. Титова ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ ПРЕПАРАТА ФОТОЛОН ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ РАЗЛИЧНЫХ ЛОКАЛИЗАЦИЙ

*Российский научный центр рентгенодиологии, Москва*

**Цель исследования.** Определение эффективности фотодинамической терапии (ФДТ) с применением препарата фотолон в самостоятельном и комбинированном лечении у больных плоскоклеточным раком различных локализаций.

**Материалы и методы.** Специальное лечение проведено 11 больным с опухолями различных локализаций с применением лазерного аппарата «ЛАЗОН-ФТ» и фотосенсибилизатора фотолон. Проведено 12 сеансов ФДТ. Возраст больных варьировал от 38 до 78 лет. По нозологиям больные распределились следующим образом: рак кожи – 2, рак пениса – 1, рак языка – 1, рак дна рта – 2, рак влагалища и рак шейки матки – по 1 больной, рак вульвы – 3 больных. Всем больным был установлен морфологический диагноз плоскоклеточный рак. Среди перечисленных больных 7 пациентов с рецидивными новообразованиями. Большинству больных (6) проведена ФДТ с фотолоном в рамках самостоятельного лечения из-за ограничения применения других методов, учитывая предыдущие методы лечения (ВПГТ, ДГТ). У 5 – лечение проведено в рамках комбинированного с применением полихимиотерапии и дистанционной гамма-терапии.

**Результаты.** Непосредственные результаты оценивались через 1,5 мес после завершения лечения. Полная регрессия отмечена у 10 больных, частичная – у 1. Сроки наблюдения за больными на данный момент составляют от 3 до 18 мес. Фототоксичности от применения фотолона мы не выявили ни у одного пациента. Болевой синдром при проведении сеанса ФДТ был слабый, всем больным перед сеансом ФДТ проводилась премедикация. Отек и гиперемия кожи или слизистой оболочки в зоне облучения отмечались у большинства больных. При лучевой терапии отмечались стандартные реакции в виде лучевого эпителиита 1–2 ст. по ВОЗ, которые проходили в сроки 14–21 день по завершении гамма-терапии. Больным проводилась симптоматическая терапия лучевого эпителиита. У 1 больного отмечалась химиотоксичность 1-й степени по СТНС после курса полихимиотерапии. Все пациенты находятся на динамическом наблюдении и обследовании.

**Выводы.** Применение ФДТ с препаратом фотолон в самостоятельном плане и многокомпонентных программах лечения с первичными опухолями и рецидивами заболевания с сопутствующей соматической патологией эффективно при плоскоклеточном раке кожи, полости рта и наружных половых органов.

*Г. В. Пономарев*

### ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ НА ОСНОВЕ ПРИРОДНОГО ХЛОРОФИЛЛА А

*ГУ НИИ БМХ РАМН, Москва*

*ООО «ВЕТА-ГРАНД», Москва*

В докладе проанализировано современное состояние разработки фотосенсибилизаторов (ФС) в России для фотодинамической терапии (ФДТ), исходя из природных источников, содержащих хлорофилл а.

В результате последних исследований показано, что хлорин еб, используемый в качестве основного активного вещества при создании отечественного препарата фотодитазин, обладает максимальной фотодинамической активностью среди ближайших структурных производных хлорофилла а, которые возможно синтезировать с минимальными экономическими затратами. и разработать удовлетворительный технологический регламент его производства.

Поэтому в ближайшие несколько лет можно ожидать лишь появления на рынке лекарственных препаратов в виде новых лекарственных форм фотодитазина, а также некоторых производных по винильному заместителю или остатку пропионовой кислоты хлорина еб.

Весьма перспективным может оказаться создание липосомальных (наносомальных) форм ФС на базе хлорина еб, феофитина а, феофорбида а, пурпурина и других минимально измененных химическими методами производных хлорофилла а.

Получение металлокомплексов (например, Pd) – новое направление, до настоящего времени мало изученное, но весьма перспективное не только для создания новых ФС, но и для разработки весьма чувствительных биосенсоров и диагностических средств.

*Ю. А. Рагулин, М. А. Каплан, В. Н. Медведев, В. Н. Капину*

### ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРАМИ ХЛОРИНОВОГО РЯДА В ЛЕЧЕНИИ ЦЕНТРАЛЬНОГО РАКА ЛЕГКОГО

*ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск*

**Цель исследования.** Оценить непосредственные клинические, рентгенологические и эндоскопические результаты фотодинамической терапии (ФДТ) с фотосенсибилизаторами хлоринового ряда больным центральным раком легкого.

**Материалы и методы.** В клинике ГУ МРНЦ РАМН проведена ФДТ 40 больным центральным раком легкого. За 2 ч до процедуры им внутривенно капельно вводился фотосенсибилизатор хлоринового ряда (фотолон, фотодитазин) в дозе 0,7–1,9 мг/кг. Для ФДТ использовали лазерные терапевтические установки, мощность подаваемой дозы составляла от 0,4 Вт до 1,6 Вт, плотность энергии лазерного излучения 100–300 Дж/см<sup>2</sup>. Эндоскопические процедуры выполняли с помощью видеоинформационной системы OLYMPUS EVIS Exera 160.

**Результаты.** К настоящему моменту непосредственные результаты удалось оценить у 26 больных. При бронхоскопии через 5–7 дней у 7 (26,9 %) больных отмечалось поверхностное повреждение опухоли, у 17 (65,4 %) – выраженный некроз опухолевой ткани, у 3 из них повреждение окружающей здоровой ткани, у 2 больных реакции со стороны опухолевой ткани не наблюдалось. При этом же исследовании, выполненном 22 больным через месяц после ФДТ, у 14 (63,6 %) произошла полная регрессия экзофитного компонента опухоли, у 6 (27,3 %) отмечалось уменьшение опухолевого очага, у 2 уменьшения опухоли не выявлено. Клинически реализация эффекта фотодинамической терапии проявлялась в полном прекращении кровохарканья у больных, уменьшение кашля отметили 10 (83 %) из 12 больных, уменьшение одышки – 8 (66,7 %) из 12 больных, имевших данные симптомы. Положительная рентгенологическая динамика в виде разрешения ателектаза и устранения вентиляционных нарушений отме-

чалась в 67 % случаев. Значимых различий в эффективности применения фотосенсибилизаторов не было.

**Выводы.** ФДТ с фотосенсибилизаторами хлоринового ряда (фотолон, фотодитазин) может быть эффективно применена в лечении центрального рака легкого как самостоятельно с паллиативной целью, так и в сочетании с радио- и/или химиотерапией с целью улучшения результатов комбинированного лечения. ФДТ должна более широко применяться для лечения остаточных и рецидивных опухолей, а также при невозможности проведения радио- и/или химиотерапии.

*Т. А. Савельева, А. А. Стратонников, К. Г. Линьков,*

*В. Б. Лощенов*

### СИСТЕМА ФЛЮОРЕСЦЕНТНОЙ ЛАПАРОСКОПИИ В БЛИЖНЕЙ ИК ОБЛАСТИ

*Институт общей физики им. А. М. Прохорова РАН, Москва*

Задача исследования состояла в разработке системы регистрации изображения собственной и индуцированной флюоресценции тканей в ближней ИК области с помощью цветной камеры, которая также могла бы использоваться для наблюдения изображения в белом свете во время одного сеанса лапароскопии.

Была разработана схема ввода лазерного излучения в осветительный канал лапароскопа. Использовались 2 источника света: галогеновая лампа для наблюдения изображения в отраженном белом свете и диодный лазер с длиной волны 635 нм мощностью 1 Вт для наблюдения флюоресцентного изображения.

Для регистрации флюоресценции изображение регистрируется цветной ПЗС-камерой с установленным перед матрицей фильтром КС-19. Переход от режима флюоресценции к режиму наблюдения в отраженном свете осуществляется путем смены фильтра в оптическом адаптере перед камерой.

Программное обеспечение позволяет автоматически перейти к обработке цветного сигнала при повышении среднего уровня яркости изображения, получаемого с камеры. В режиме флюоресценции сигнал со всех цветовых каналов суммируется и преобразуется в сигнал яркости, который подвергается сглаживанию и контрастированию, что позволяет повысить чувствительность цветной камеры в ближней ИК области.

### В. П. Сажин, Д. Л. Коган, В. А. Юрищев ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ БРЮШИНЫ: ПЕРВЫЙ ОПЫТ

*МУЗ «Новомосковская городская клиническая больница»*

**Задача исследования.** Разработать методику выполнения ФДТ брюшины.

**Материалы и методы.** ФДТ проведена 3 больным с метастатическим поражением брюшины. В 1-м случае ФДТ выполнена пациентке 44 лет с рецидивирующим раком яичников в стадии T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>. 2-й больной в возрасте 33 лет был с диагнозом рак желудка T<sub>3</sub>N<sub>2</sub>M<sub>1</sub>. Химиотерапия в обоих случаях оказалась неэффективной, в результате чего была проведена ФДТ. В 3-м случае у больного 40 лет был выявлен рак печеночного изгиба ободочной кишки T<sub>3</sub>N<sub>2</sub>M<sub>1</sub>. Выполнена ФДТ с последующей правосторонней гемиколэктомией.

У всех больных на дооперационном этапе был выявлен тотальный канцероматоз брюшины. Количество метастатических очагов составляло от 50 до 100, размер – 0,5–1,5 см. Асцит наблюдался у всех больных в количестве 100–200 мл. Гистологически в 2 случаях был выявлен железистый рак, в 1 случае – респираторно-клеточный.

Всем больным проведена лапароскопическая ФДТ под интубационным наркозом. В качестве фотосенсибилизатора применялся фотогем в дозе 200мг. Использовали лазер на парах золота «МЕТАЛЛА3-З», лапароскопическую видеосистему фирмы DUFNER. Облучение проводилось посредством световода с цилиндрическим диффузором 1,0 см.

**Результаты.** После ФДТ отмечался отек и тугоelasticость париетальной брюшины, скудное плазматическое отделяемое. Болевой синдром был умеренным, купировался ненаркотическими анальгетиками. Лапароскопический доступ при ФДТ создает возможность подвести световод ко всем труднодоступным участкам брюшной полости, существенно уменьшает операционную травму. Время проведения операции составило 2,5–3 ч. Интраоперационных осложнений не было. В послеоперационном периоде 1 больная умерла на 21-е сут от сердеч-

но-сосудистой недостаточности. На вскрытии визуально метастатические очаги не определялись. Только прицельное гистологическое исследование выявило клетки аденокарциномы. При неоперабельном раке желудка эффекта от ФДТ выявлено не было. На контрольной лапароскопии отмечен продолженный рост метастазов, нарастание асцита. 3-й больной с диагнозом рак толстой кишки жив в течение 8 мес без признаков рецидива.

Таким образом, из 3 случаев ФДТ оказалась эффективной в 2 при удаленной опухоли, причем асцит также был купирован.

**Выводы.** ФДТ при канцероматозе брюшины возможна с лапароскопическим доступом. ФДТ эффективна при метастатическом поражении брюшины в плане комплексной терапии, однако показания и режимы проведения требуют дальнейших исследований.

*О. А. Скугарева, И. С. Стиченко, М. А. Каплан*  
**ИНТЕРСТИЦИАЛЬНАЯ  
 ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ  
 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОПУХОЛИ  
 САРКОМЫ М1**

*ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск*

**Цель исследования.** Разработать методику и оценить эффективность интерстициальной фотодинамической терапии (ИФДТ) в экспериментальных условиях.

**Материалы и методы.** Работа выполнена на 98 беспородных крысах (самках) с перевитой подкожно в область бедра саркомой М1, которым проводилась ИФДТ. При помощи иглы с мандреном диффузора с длиной активной части 1–2 см вводились непосредственно в опухоль, после чего проводилось облучение. Использовалось лазерное излучение ( $\lambda=662$  нм) с мощностью на выходе (р) 200 и 300 мВт, время облучения (t) 13; 20 и 26 мин. В качестве фотосенсибилизаторов применялись ФС хлоринового ряда в дозе 5 мг/кг, введенные внутривентриально. Облучение проводили через 1,5–2 ч после введения препарата на лазерных аппаратах «Аткус-2» и «Латус-0,4». Эффект фотодинамической терапии оценивали на 21-е сут после сеанса ФДТ по следующим критериям: процент животных с полной регрессией опухоли, коэффициент абсолютного прироста опухоли для животных с продолженным ростом опухоли (К).

**Результаты.** В группе животных со средним объемом опухоли 0,3 см<sup>3</sup> использовался 1 световод с активной частью диффузора 1 см. При облучении с р=300 мВт и t=13 мин полная регрессия опухоли получена в 55 % случаев, К составил 17,65 (69,3 в контрольной группе). Увеличение времени облучения до 26 мин дало полную регрессию опухоли у 66% животных и значительное снижение К до 0,86 (69,3 в контроле). Уменьшение р до 200 мВт при t=20 мин привело к увеличению количества животных с полной регрессией до 86%, К составил 5,48 (в контроле 46,9). В группе животных со средним объемом опухоли 0,4–0,5 см<sup>3</sup>, пролеченных с использованием лазерного облучения р=300 мВт и t=13 мин, полных регрессий получено не было, а К составил 6,44 (в контроле 46,9). При увеличении времени до 26 мин полная регрессия отмечена у 30 % животных, хотя К не уменьшился и составил 6,2 (в контроле 46,9). И, наконец, группе животных со средним объемом опухоли 0,7–0,8 см<sup>3</sup> параллельно вводили 2 световода с активной частью диффузора 2 см, р=200 мВт, t=20 мин. Полная регрессия была достигнута в 100 % случаев.

**Выводы.** ИФДТ эффективна при лечении саркомы М1 с использованием относительно небольшой плотности энергии лазерного облучения. Уменьшение плотности энергии лазерного излучения с 300 до 200 мВт приводит к увеличению процента животных с полной регрессией опухоли. Применение 2 диффузоров позволяет эффективно пролечивать животных с опухолями относительно большого размера.

*З. С. Смирнова<sup>1</sup>, Л. М. Борисова<sup>1</sup>, М. П. Киселева<sup>1</sup>,  
 Г. А. Меерович<sup>2</sup>, Е. А. Лукьянец<sup>3</sup>, Г. Н. Ворожцов<sup>2</sup>*  
**ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ  
 ИССЛЕДОВАНИЙ ДИНАМИКИ  
 НАКОПЛЕНИЯ ФОТОСЕНСА  
 В ОПУХОЛИ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ  
 R3327 MATLYLU КРЫС**

*<sup>1</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва*

*<sup>2</sup>ЦЕНИ институт общей физики им. А. М. Прохорова РАН, Москва*

*<sup>3</sup>ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва*

**Введение.** Фотодинамическая терапия (ФДТ) рака простаты имеет большие перспективы применения. Эффективность ФДТ в значительной степени зависит от концентрации фотосенсибилизатора в опухоли. Настоящая работа посвящена исследованию накопления фотосенсибилизатора фотосенс в перевиваемой опухоли простаты R3327 MatLyLu крыс и оценке селективности его накопления по сравнению с окружающими органами и тканями.

**Материалы и методы.** Исследования проводились на крысах-самцах линии Sorengahen массой 250 г. Опухоль R3327 MatLyLu (РПЖ) перевивали ортотопически по 500×10<sup>3</sup> опухолевых клеток в 5 мкл среды RPMI-1640. На 11-й день после перевивки средний объем опухолей составлял более 1,3 см<sup>3</sup>. Фотосенс вводили внутривенно в хвостовую вену в дозе 2 мг/кг. Уровень накопления фотосенса оценивался спектрально-флуоресцентным методом с использованием спектроанализатора «ЛЭСА-01-Биоспек». Волоконный катетер спектроанализатора подводился к исследуемым органам животного через небольшую разрез брюшины. Кроме простаты и расположенных рядом внутренних органов, исследовалась для сравнения также кожа и губы животного.

**Результаты.** Исследования показали, что уровень накопления фотосенса в ткани опухоли предстательной железы R3327 MatLyLu через 24 ч после введения препарата в 4–6 раз превышает накопление в немалигнизированной части простаты и семенниках, в 3–5 раз превышает накопление в мочевом пузыре и в 2–4 раза – в коже животного. Кроме того, следует подчеркнуть, что уровень накопления фотосенса продолжает расти до 48 ч наблюдения, а затем постепенно начинает снижаться.

**Выводы.** Значительное накопления в опухоли простаты и высокая селективность по отношению к прилегающим органам и коже делает перспективным использование фотосенса для разработки методики ФДТ опухолей простаты.

*А. Б. Соловьева<sup>1</sup>, А. В. Иванов<sup>2</sup>,  
 А. Г. Коноплинников<sup>3</sup>, Н. С. Мелик-Нубаров<sup>4</sup>,  
 Т. М. Жиентаев<sup>4</sup>, Н. Н. Глаголев<sup>1</sup>,  
 Г. В. Пономарев<sup>1</sup>*

**ВЛИЯНИЕ АМФИФИЛЬНЫХ ПОЛИМЕРОВ  
 НА ЦИТОТОКСИЧЕСКУЮ ЭФФЕКТИВНОСТЬ  
 ФОТОДИТАЗИНА**

*<sup>1</sup>Институт химической физики им. Н. Н. Семенова РАН, Москва*

*<sup>2</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва*

*<sup>3</sup>ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск*

*<sup>4</sup>МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва*

Метод фотодинамической терапии (ФДТ) рака заключается во введении в организм человека туморотропного тетрапиррольного фотосенсибилизатора (ТФС), который накапливается на липидном биослое опухолевых клеток и под действием видимого света активирует кислород воздуха до возбужденного синглетного <sup>1</sup>O<sub>2</sub> состояния. Синглетный кислород окисляет клеточные компоненты и инициирует каскад процессов, приводящих к гибели опухолевых клеток. Однако степень воздействия ТФС на клетки остается невысокой, поскольку время жизни <sup>1</sup>O<sub>2</sub> в клетке не превышает 10 мкс. Кроме того, накопление достаточной концентрации ТФС в очаге поражения обычно сопровождается его высоким содержанием во всем организме, что является причиной длительного фототоксического эффекта. Поэтому снижение доз препаратов ФДТ является важной задачей дальнейшего развития ФДТ.

В данной работе показано, что комплексообразование некоторых амфифильных полимеров (АП) с водорастворимыми ТФС димегином и фотодитазином повышает эффективность воздействия этих ТФС на опухолевые клетки в 10 и более раз. При этом методом флуоресцентной спектроскопии было показано, что присутствие используемых АП не повышает содержания ФД в клетках. Кроме того, предварительное экспонирование комплексов ТФС-амфифильный полимер с опухолевыми клетками не приводило к повышению эффективности ТФС. Это свидетельствует о воздействии комплекса ТФС-полимер на опухолевые клетки именно в момент освещения. Возможно, изученные амфифильные полимеры, локализуясь на дефектах, образовавшихся в клеточных мембранах в результате повреждающего действия синглетного кислорода, препятствуют регенерации клеток, что приводит к повышению эффективности воздействия комплексов ТФС-полимер.

А. А. Стратонников

### К ВОПРОСУ О ДОЗИМЕТРИИ ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ: СВЕТ, ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОР, КИСЛОРОД

ЦЕНИ институт общей физики им. А. М. Прохорова РАН, Москва

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – эффективный метод лечения рака и других заболеваний путем избирательного воздействия света на фотосенсибилизатор (ФС) в пораженных тканях. Предполагают, что эффективность разрушения связана с образованием синглетного кислорода при взаимодействии возбужденных светом молекул ФС с молекулярным кислородом. Таким образом, разрушающий эффект будет пропорционален скорости образования синглетного кислорода, которая, в свою очередь, зависит от интенсивности света, концентрации ФС и наличия молекулярного кислорода в тканях. Для светового воздействия обычно используются лазеры в диапазоне от 600 до 800 нм, где глубина проникновения света в биологические ткани максимальна. Типичные плотности мощности светового облучения составляют 50–400 мВт/см<sup>2</sup>, а световые дозы 50–300 Дж/см<sup>2</sup>.

Большое значение в ФДТ имеет дозиметрия. Простейший подход к ней, который используется в настоящее время в клинике, включает в себя следующие 3 основные составляющие: доза введения ФС, измеряемая в миллиграммах на килограмм веса тела; временной промежуток между введением ФС и световым воздействием (время накопления) и световая доза. Однако окончательный эффект, как было сказано выше, определяется концентрацией генерированных фотоактивных продуктов, основным из которых для большинства ФС является синглетный кислород. Связь между параметрами простейшего протокола ФДТ и концентрацией фотоактивных продуктов довольно сложна и требует знания множества дополнительных факторов, таких, как оптические свойства тканей (коэффициент поглощения и редуцированный коэффициент рассеяния), концентрация ФС в тканях, плотность дозы светового воздействия, степень оксигенации тканей. Поэтому физические аспекты данной проблемы очень важны для подбора оптимальной тактики лечения и надлежащего контроля. Возможно также, что более перспективный подход к данной проблеме связан с неявной дозиметрией, суть которой заключается в контроле какого-нибудь свойства ткани, коррелирующего с окончательным биологическим эффектом. В качестве контрольного свойства может, в частности, выступать флуоресценция самого ФС или дополнительного маркера, а также собственная флуоресценция тканей.

В данной работе будет приведен обзор различных подходов к вопросу о дозиметрии при фотодинамической терапии.

В. Ю. Тимошенко<sup>1</sup>, Л. А. Осминкина<sup>1</sup>,

А. С. Воронцов<sup>1</sup>, Т. Ю. Базыленко<sup>1</sup>,

П. К. Кашикар<sup>1</sup>, А. А. Кудрявцев<sup>2</sup>,

С. С. Сухарев<sup>3</sup>, И. В. Решетов<sup>3</sup>, Д. Ковалев<sup>4</sup>

### КРЕМНИЕВЫЕ НАНОКРИСТАЛЛЫ КАК ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ АКТИВНОГО КИСЛОРОДА ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ

<sup>1</sup>МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва,

<sup>2</sup>Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино

<sup>3</sup>Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П. А. Герцена

<sup>4</sup>Университет г. Бас, Великобритания

Кремниевые нанокристаллы (nc-Si), диспергированные в воде, были использованы для фотосенсибилизации процесса генерации активного кислорода. Эффективность фотосенсибилизации контролировалась по гашению экситонной фотолуминесценции nc-Si. *In vitro* эксперименты на раковых клетках фибробластов мыши продемонстрировали значительное (до 80 %) уменьшение их числа при контакте с фотовозбужденными nc-Si. Анализ ДНК клеток показал, что в присутствии фотовозбужденных nc-Si с концентрацией 0,1–0,5 г/л гибель клеток происходит по механизму апоптоза. Проведенные *in vivo* эксперименты на животных подтверждают гипотезу об апоптозном механизме влияния nc-Si на раковые опухоли. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования nc-Si в биомедицинских целях, в частности, для фотодинамической терапии рака.

В. Л. Филинов, А. М. Сдвижков, В. И. Борисов, А. М. Чабров, Н. В. Астахова, К. Ш. Пичугина

### ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ БОЛЬНЫХ РАКОМ ВУЛЬВЫ И ШЕЙКИ МАТКИ

Онкологический клинический диспансер №1 Департамента здравоохранения Москвы

**Задача исследования.** Оценка эффективности и безопасности фотодинамической терапии (ФДТ) как органосохраняющего лечения больных раком вульвы и раком шейки матки.

**Материалы и методы.** Больным раком вульвы 1–2а стадии проводилась ФДТ с препаратом фотосенс. Применялось дистанционное внутритканевое и контактное лазерное облучение длиной волны 670 нм в виде 1 сеанса под общим обезболиванием. Облучение проводилось на всю поверхность органа и дополнительно на зоны выявленных опухолей. Суммарная световая доза на область опухоли составила 300–500 Дж/см<sup>2</sup>, плотность мощности 100–200 мВт/см<sup>2</sup>. Больным с дисплазией III и раком *in situ* шейки матки ФДТ назначалась амбулаторно с препаратами аласенс или фотосенс (1–2 сеанса). Облучение проводилось лазерами с длинами волн 630 и 670 нм, соответственно используемому фотосенсибилизатору. Шейка матки облучалась дистанционно, канал – посредством диффузора. Суммарная световая доза была 100–200 Дж/см<sup>2</sup>, плотность мощности – 100 мВт/см<sup>2</sup>.

**Результаты.** ФДТ проведена 68 больным раком вульвы в возрасте от 31 до 89 лет, 74 % больных было старше 60 лет. В 65 % случаев была диагностирована стадия заболевания T<sub>1</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>, в 35 % – T<sub>2</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>. Клинически и по данным морфологического исследования в 93 % случаев при 1-й стадии процесса получена полная регрессия опухоли, при 2-й стадии – в 83 % случаев. В 3 % случаев имел место рубцовый стеноз в области преддверия влагалища, купированный последующей CO<sub>2</sub>-лазерной деструкцией. Оценивался безрецидивный период у пациенток с полной регрессией опухоли после ФДТ, который составил: 5 лет – 14 больных, 4 года – 7 больных, 3 года – 13 больных, 2 года – 15 больных, 1 год – 10 больных, до года – 9 больных. ФДТ проведена 28 больным с различной патологией шейки матки в возрасте от 28 до 79 лет. 68 % больных было репродуктивного возраста. В результате лечения по данным морфологического исследования – полная регрессия процесса получена в 86 % случаев. Осложнений и побочных эффектов не было зарегистрировано. Больные наблюдаются в сроки от 3 до 14 мес.

**Выводы.** Фотодинамическая терапия – эффективный органосохраняющий метод в лечении больных злокачественными заболеваниями вульвы и шейки матки в начальной стадии процесса, что позволяет рекомендовать ее к более широкому применению в клинической онкогинекологии.

### Е. В. Филоненко, В. В. Соколов, В. И. Чиссов ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ РАННЕГО РАКА ПИЩЕВОДА И ЖЕЛУДКА: КЛИНИЧЕСКИЙ ОПЫТ МНИОИ ИМ. П. А. ГЕРЦЕНА

МНИОИ им. П. А. Герцена, Москва

**Введение.** По данным мировой статистики заболеваемость и смертность от рака за последние десятилетия неуклонно растет. По-прежнему отдаленные результаты при использовании различных методов лечения в значительной степени зависят от стадии опухолевого процесса, в связи с чем в последние годы разрабатываются и внедряются новые методы ранней диагностики, направленные на выявление бессимптомных, скрытых форм раннего рака различной локализации. Для этой категории пациентов все шире используются новые методы органосохраняющего и функционально-щадящего лечения, к которым относится фотодинамическая терапия (ФДТ).

**Материалы и методы.** В МНИОИ им. П. А. Герцена метод ФДТ для лечения больных ранним раком пищевода и желудка применяется с 1992 г. За истекший период ФДТ была выполнена для лечения 121 опухоли стадии T<sub>1</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> у 116 больных ранним раком пищевода (48 больных/48 опухолей) и желудка (68/73). Для ФДТ используем отечественные фотосенсибилизаторы 4 различных классов: фототем (производное гематопорфинина), фотосенс (сульфированный фталоцианин алюминия), радахлорин (хлорин е6), аласенс (5-амино-

левулиновая кислота). Сеанс ФДТ опухолей полых органов выполняем под местной анестезией во время стандартного эндоскопического исследования с использованием гибких эндоскопов фирмы Olympus (Япония). При проведении сеансов ФДТ применяем отечественные диодные лазерные установки с длиной волны, соответствующей полосе поглощения каждого из фотосенсибилизаторов, доставляя излучение к опухоли кварцевыми световодами различных типов через рабочий канал эндоскопа. Эффективность ФДТ оцениваем через 1 мес после ФДТ на основании данных эндоскопического, морфологического, рентгенологического и УЗИ исследований. В последующем проводим регулярные динамические контрольные осмотры.

**Результаты.** В результате ФДТ 121 опухоли у 116 больных получена полная регрессия 90 очагов рака (74,4 %), частичная регрессия – 31 очагов (25,6 %). Рецидив в срок от 9 мес до 5 лет диагностирован у 7 пациентов (7,8 %): в группе больных начальным раком пищевода – у 4 (проведены повторные курсы ФДТ с полной регрессией 3 больным, с частичной – 1), в группе больных начальным раком желудка – у 3 (проведены повторные курсы ФДТ с полной регрессией 2 больным, с частичной – 1). Выбыли из наблюдения в срок от 1 до 4 лет в группах больных раком пищевода и раком желудка 8 и 17 больных соответственно, живы в срок от 1 до 11 лет – 23 и 37 пациентов соответственно, умерли в срок от 3 до 8 лет 17 и 14 больных соответственно. Причиной смерти явились: прогрессирование опухолевого процесса – у 14 (рак пищевода – 8, рак желудка – 6), прогрессирование первично-множественного синхронного рака другой локализации – у 3 (в группе больных раком пищевода – у 1, желудка – у 2), прогрессирование сопутствующих неопухолевых заболеваний – у 14 (в группе больных раком пищевода – у 8, желудка – у 6).

**Выводы.** Разработанные варианты фотодинамической терапии перспективны для лечения начальных форм рака пищевода и желудка и могут быть альтернативой хирургическому лечению, особенно у пациентов с тяжелой сопутствующей патологией.

*И. В. Чернышев<sup>1</sup>, О. И. Аполин<sup>1</sup>,  
Д. В. Алтунин<sup>1</sup>, Ю. В. Самсонов<sup>1</sup>,  
С. Г. Кузьмин<sup>2</sup>, Г. Н. Ворожцов<sup>2</sup>*

### АДЬЮВАНТНАЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ С ПРЕПАРАТОМ ФОТОСЕНС ПОВЕРХНОСТНОГО РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

<sup>1</sup>ФГУ НИИ урологии Росздрава, Москва

<sup>2</sup>ГУП «МНКЦ «Интермедбиофизхим», Москва

**Цель исследования.** Оценить эффективность фотодинамической терапии (ФДТ) с препаратом фотосенс в качестве адьювантной терапии поверхностного рака мочевого пузыря.

**Материалы и методы.** Метод ФДТ был применен 14 пациентам с переходно-клеточным раком мочевого пузыря в стадии T<sub>1</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>G<sub>2</sub> после трансуретральной резекции мочевого пузыря с противорецидивной целью. Пациенты были предупреждены о возможных побочных эффектах метода. Исследование не предлагалось пациентам, страдающим наследственной и приобретенной порфирией, повышенной кожной фоточувствительностью, печеночной и почечной недостаточностью.

Адьювантная ФДТ выполнялась через 1–1,5 мес после трансуретральной резекции по поводу поверхностного рака мочевого пузыря. Перед проведением ФДТ выполнялась контрольная обычная и флюоресцентная цистоскопия. При необходимости выполнялась щипковая и ТУР-биопсия. При отсутствии воспалительной картины, полной эпителизации послеоперационного рубца и наличии прозрачной среды пациентам выполнялся сеанс ФДТ. Препарат фотосенс вводился пациентам в дозе 0,8 мг/кг внутривенно-капельно за 24 ч до сеанса ФДТ. В асептических условиях без общего обезболивания, непосредственно перед сеансом ФДТ выполнялась анестезия уретры лидокаиномсодержащими гелями. Выполнялась цистоскопия. Полость мочевого пузыря заполнялась до полного расправления стенок физиологическим 0,9%-ным раствором натрия хлорида. Объем мочевого пузыря фиксировался в протоколе (в среднем 150–200 мл).

ФДТ выполнялась с использованием лазерной установки для ФДТ ЛФТ 675-01 «Биоспек» с оптико-волоконным цилиндрическим световодом. На протяжении всего сеанса контролировалось место установки диффузора и объем мочевого пузыря.

Плотность энергии за один сеанс лечения составила 15 Дж/см<sup>2</sup>. Среднее время сеанса – 22 мин. 12 пациентов получили 1 сеанс, 2 пациента – 2 сеанса ФДТ. В последующем всем пациентам каждые 3 мес проводилось обследование: ультразвуковое исследование, цистоскопия в обычном и сине-фиолетовом свете, выполнение биопсии из области послеоперационного рубца и участков слизистой мочевого пузыря, подозрительных на рецидив рака.

**Результаты.** Срок наблюдения за пациентами не превышает 7 мес. Ближайшие рецидивы отсутствуют у всех пациентов. Побочные эффекты, зарегистрированные в процессе ФДТ, и осложнения не представляли угрозы для жизни больного. Во время проведения сеанса ФДТ у 5 (35,7 %) возникали неприятные либо болезненные ощущения над лоном, которые после прекращения процедуры проходили самопроизвольно, либо требовали приема анальгетиков. Системного и аллергического действия при внутривенном введении фотосенса выявлено не было.

**Выводы.** Метод может применяться в амбулаторной практике. В раннем периоде наблюдения рецидивов опухоли нет у всех пациентов. Отработка режимов ФДТ нуждается в дальнейшем изучении. Последующий мониторинг за пациентами позволит определить эффективность предлагаемого метода и дать практические рекомендации по его использованию.

*Д. М. Язудаев<sup>1</sup>, А. Е. Сорокатый<sup>1</sup>, А. В. Гейнц<sup>2</sup>,  
М. В. Маркова<sup>1</sup>*

### ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРПЛАЗИИ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОМ ФОТОДИТАЗИНОМ

<sup>1</sup>Городская клиническая больница №51, Москва

<sup>2</sup>ФГУ «Государственный научный центр лазерной медицины» Росздрава, Москва

**Введение.** Одно из часто встречающихся заболеваний мужчин пожилого возраста – доброкачественная гиперплазия предстательной железы (ДГПЖ). Лечение ДГПЖ и сегодня остается актуальным вопросом современной урологии. Единственным радикальным методом лечения данного заболевания остается оперативный метод, использование которого сопряжено с высоким риском осложнений во время операции и в послеоперационном периоде. В связи с этим все большее внимание уделяется внедрению в практику современных малоинвазивных методик. Одна из них – фотодинамическая терапия (ФДТ). Это – медицинская технология, основанная на фотохимической реакции, катализатором которой является кислород, активированный энергией лазерного излучения, сконцентрированной фотосенсибилизатором. Незначительное количество сообщений об использовании ФДТ для лечения заболеваний предстательной железы обусловлено отсутствием данных о накоплении, распределении и выведении фотосенсибилизатора из гиперплазированной ткани ПЖ, оптимального способа доставки лазерной энергии к железе, а также четких дозиметрических протоколов.

**Материалы и методы.** ФДТ была проведена 30 мужчинам с аденомой предстательной железы с клиническими проявлениями заболевания. Возраст пациентов колебался от 58 до 79 лет (M=70,53; m±0,81).

Опрос жалоб по системе I-PSS показал выраженность симптоматики и составил M=22,6; m±1,06 баллов. Качество жизни пациентов – L было низким (M=4,33; m±0,13). Объем аденомы предстательной железы варьировал от 35 см<sup>3</sup> до 164 см<sup>3</sup> (M=69,5; m±5,98 см<sup>3</sup>). Объем остаточной мочи – M=159,2; m±24,2 см<sup>3</sup>. У всех пациентов отмечались сниженные уродинамические показатели. В частности, максимальная скорость потока мочи (Q<sub>max</sub>) была снижена и составляла M=5,62; m±0,32 мл/с.

Соматический статус пациентов был отягощен сопутствующими заболеваниями.

**Результаты.** После сеанса ФДТ отмечено, что у 28 пациентов (93 %) самостоятельное мочеиспускание восстановилось в течение ближайших часов. В 2 случаях (7 %) потребовалось дренирование мочевого пузыря уретральным катетером в связи с острой задержкой мочеиспускания. Самостоятельное мочеиспускание у этих пациентов восстановилось на 2–3-е сут. В первые часы после процедуры у 17

пациентов (56 %) отмечена дизурия, купированная уроантисептиками. Продолжалось также лечение сопутствующих заболеваний. Койкодень пациентов составил  $M=2,7$ ;  $m\pm 0,7$ сут.

Первое контрольное обследование больным проводилось через 1 мес после сеанса ФДТ. Опрос жалоб по системе I-PSS показал снижение выраженности симптомов до  $M=10,35$ ;  $m\pm 1,18$  баллов. Качество жизни пациентов L улучшилось и составило  $M=2,46$ ;  $m\pm 0,21$ . При УЗИ-исследовании отмечалось уменьшение объема простаты в среднем на 18,3 % ( $M=56,73$ ;  $m\pm 6,25$ см<sup>3</sup>). Объем остаточной мочи уменьшился на 73,17 % и составил  $M=42,7$ ;  $m\pm 11,07$ см<sup>3</sup>. Qmax возросла до  $M=7,63$ ;  $m\pm 0,32$  мл/с.

К 3-му мес отмечена тенденция к улучшению показателей. I-PSS составил  $M=9,16$ ;  $m\pm 1,32$  баллов, L –  $M=2,42$ ;  $m\pm 0,26$ . Объем предстательной железы по сравнению с исходным уменьшился на 27,2 % ( $M=50,58$ ;  $m\pm 6,17$  см<sup>3</sup>). Количество остаточной мочи сократилось на 92,7 % и составило  $M=11,58$ ;  $m\pm 4,79$  см<sup>3</sup>. Максимальная скорость потока мочи возросла до  $M=8,61$ ;  $m\pm 0,37$  мл/с.

К 6-му мес наблюдения I-PSS снизилось до  $M=6,73$ ;  $m\pm 1,28$  балла, качество жизни пациентов L –  $M=1,91$ ;  $m\pm 0,31$ . Объем предстательной железы уменьшился на 40,5 % и составил  $M=41,36$ ;  $m\pm 6,19$  см<sup>3</sup>. Количество остаточной мочи незначительно возросло ( $M=17,27$ ;  $m\pm 7,99$  см). Максимальная скорость потока мочи возросла до  $M=8,97$ ;  $m\pm 0,52$  мл/с.

**Выводы.** Таким образом, впервые изучена возможность применения ФДТ аденомы предстательной железы с использованием фотосенсибилизатора из группы хлоринов – фотодитазина. Разработана и применена методика ФДТ с использованием 3-ходового силиконового катетера с 2 баллонами, что позволяет оказывать помощь пациентам пожилого и старческого возраста с отягощенным соматическим статусом. Полученные результаты свидетельствуют о снижении не только ирритативной, но и обструктивной симптоматики, улучшении качества жизни пациентов и сохранении половой функции. Проведение ФДТ по предложенной нами методике позволяет использовать ее в амбулаторных условиях и сократить сроки пребывания больного в стационаре.

*Р. И. Якубовская<sup>1</sup>, Н. Б. Морозова<sup>1</sup>, А. Ф. Миронов<sup>2</sup>, М. А. Грин<sup>2</sup>, В. И. Чиссов<sup>1</sup>*

### **ИЗУЧЕНИЕ *IN VIVO* ФОТОИНДУЦИРОВАННОЙ АКТИВНОСТИ ТРИНАТРИЕВОЙ СОЛИ БАКТЕРИОХЛОРИНА Е6**

<sup>1</sup>ФГУ «МНИОИ им. П. А. Герцена Росздрава», Москва

<sup>2</sup>МИТХТ им. М. В. Ломоносова, Москва

**Цель исследования.** Оценка фотоиндуцированной противоопухолевой эффективности бактериохлорина е6.

**Материалы и методы.** Использовали тринатриевую соль бактериохлорина е6, имеющую максимум поглощения в длинноволновой области спектра 760 нм. Фотосенсибилизатор вводили внутривенно в дозах 2,5 и 5,0 мг/кг. В качестве растворителя использовали изотонический (0,9 %) раствор натрия хлорида.

*In vivo* эксперименты были выполнены на мышах с привитой подкожно на бедро опухолью саркома 37 (S37) по  $1\times 10^6$  клеток на мышь. ФДТ проводили на 6-й день роста опухоли. В качестве источника оптического излучения использовали ксеноновую лампу с фильтром на 760 нм. Плотность мощности ( $160$  мВт/см<sup>2</sup>) контролировали с помощью регулятора и измерителя мощности ИПМО (НПО «Полос»), плотность энергии составляла  $580$  Дж/см<sup>2</sup> при диаметре светового пятна 10 мм и времени облучения 60 мин. Критериями оценки противоопухолевого эффекта ФДТ являлись торможение роста опухоли (ТРО), увеличение продолжительности жизни (УПЖ) и критерий излеченности (Ки).

**Результаты.** В системе *in vivo* на животных с перевивной опухолью (S37) установлена высокая противоопухолевая эффективность при использовании производного бактериохлорина е6 в дозах 2,5 и 5,0 мг/кг и интервале между введением красителя и облучением 15 мин. ТРО 100 %, УПЖ > 100 %, Ки 100 % независимо от дозы красителя. Продолжительность жизни животных в контрольной группе составила  $29,0\pm 2,2$  сут.

**Выводы.** Производное бактериохлорина е6 – перспективный фотосенсибилизатор для дальнейшего углубленного изучения.

# ХИМИОТЕРАПИЯ

М. Б. Бычков<sup>1</sup>, В. А. Горбунова<sup>1</sup>, Г. Н. Егоров<sup>1</sup>, А. М. Гарин<sup>1</sup>,  
Д. А. Носов<sup>1</sup>, З. Г. Кадагидзе<sup>1</sup>, Е. Г. Славина<sup>1</sup>,  
А. И. Черткова<sup>1</sup>, Е. М. Трещалина<sup>1</sup>, В. И. Борисов<sup>2</sup>,  
С. Н. Гуров<sup>2</sup>, А. М. Беркович<sup>3</sup>

## РЕЗУЛЬТАТЫ КООПЕРИРОВАННОГО КЛИНИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ ПРЕПАРАТА ОЛИПИФАТ У БОЛЬНЫХ ДИССЕМИНИРОВАННОЙ МЕЛАНОМОЙ И РАКОМ ПОЧКИ

<sup>1</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

<sup>2</sup>Онкодиспансер № 1, Москва

<sup>3</sup>ООО «Лигфарм», Москва

**Введение.** Олипифат состоит из гидролизного окисленного лигнана и пирофосфата натрия в соотношении 1:1. Лекарственная форма Олипифата – готовый 5%-ный раствор для внутримышечного введения; 1 мл содержит не менее 10,5 мг основного вещества.

**Цель исследования.** Оценка влияния Олипифата на больных диссеминированной меланомой и раком почки.

**Задачи исследования:** 1) изучение непосредственных результатов лечения; 2) выявление спектра токсичности препарата; 3) изучение иммунного статуса в динамике и возможной связи его с результатами лечения.

**Материал и методы.** В исследование были включены 45 больных (28 – диссеминированной меланомой, 17 – раком почки). Все они ранее получали лекарственное лечение без эффекта. Режим лечения: 1 мл (50 мг) препарата вводился внутримышечно 3 раза в нед в течение 2 нед, интервал между курсами 2 нед. Эффект оценивался после каждых 2 циклов лечения, которое продолжалось до появления признаков прогрессирования

**Результаты.** При долгосрочном наблюдении за больными не удалось выявить какого-либо вида токсичности. Согласно современным критериям не удалось зарегистрировать ни одного объективного эффекта. Однако минимальные эффекты в рамках стабилизации и стабилизации по критериям ВОЗ были получены у 20 из 45 больных (44 %), у 12 из 28 больных диссеминированной меланомой (43 %) и у 8 из 17 больных раком почки (47 %). Длительность стабилизации составила при меланоме 10,8±3,42 мес, при раке почки 5,5±0,65 мес. Отмечена корреляция стабилизации с высоким или (чаще) низким уровнем CD4 и CD8, особенно в случае нормализации уже в начале лечения.

**Выводы.** Олипифат не имеет побочных явлений и способен вызывать значимую стабилизацию процесса (>4 мес) более, чем у 40 % больных диссеминированной меланомой и раком почки.

А. А. Вайнсон, В. В. Мецерикина, Н. А. Оборотова,  
О. Л. Орлова, С. П. Ярмоненко

## ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕЙСТВИЯ ЧИСТОГО ДОКСОРУБИЦИНА И ДОКСОРУБИЦИНА, ВКЛЮЧЕННОГО В ТЕРМОЛИПОСОМЫ, НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ *IN VITRO* И ОПУХОЛИ *IN VIVO* ПРИ ГИПЕРТЕРМИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

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

**Цель исследования.** Оценка степени поражения клеток солидной карциномы Эрлиха линии ELD и меланомы B16 мышшей, растущих *in vivo* и *in vitro*, при действии доксорубина (Д) в чистом виде и включенного в термоллипосомы, распадающиеся с выделением доксорубина при температуре выше 42 °С.

**Материалы и методы.** В опытах *in vitro* в суспензию клеток в питательной среде вводили либо раствор Д, либо Д, включенный в термоллипосомы, приготовленные разными способами, после чего клетки инкубировали 1 ч при 37 °С или 42,5 °С, а далее оценивали их жизнеспособность. По окончании инкубации клетки отмывали от препаратов и помещали по 2–10 тыс. в лунки 96-луночной планшеты. Для оценки числа выросших клеток через 24–48 ч в среду добавляли Ала-

мар Блю (аналог МТТ, дающий растворимый продукт метаболизма) и еще через 18 ч измеряли степень конверсии красителя.

В опытах *in vivo* препараты вводили мышам, у которых растущие в мышце голени опухоли имели диаметр около 9 мм, и через 20–30 мин конечность подвергали 30-мин прогреву в водяной бане при 43 °С.

**Результаты.** Термоллипосомы, содержащие Д, в обычных условиях инкубации клеток *in vitro* приводят к меньшему поражению клеток, чем свободный Д в аналогичных концентрациях, тогда как после сеанса гипертермии термоллипосомы с Д вызывают такое же поражение, как и чистый Д, если вычесть действие на клетки самих липосом. В опытах *in vivo* прогрев опухолей приводил к их большей регрессии и увеличению продолжительности жизни животных, чем воздействие одной гипертермии или свободного Д. Таким образом, использование липосом, высвобождающих Д при нагреве, позволяет обеспечить его направленную доставку в опухоль и таким образом уменьшить токсическое воздействие на нормальные, не прогреваемые ткани.

В опытах на клетках и опухолях показано, что термоллипосомы сохраняют активность при лиофилизации, которая делает работу с ними более удобной.

**Выводы.** Разработанные методы получения термоллипосом позволяют получить доксорубин в форме, обеспечивающей селективность его противоопухолевого действия.

А. В. Ваккер

## ХИМИОЛУЧЕВОЕ ЛЕЧЕНИЕ С ПРОСПИДИНОМ БОЛЬНЫХ РАКОМ ГРУШЕВИДНОГО СИНУСА

НИИ онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова,  
Минск, Беларусь

**Введение.** Лучевое лечение рака грушевидного синуса приводит к излечению в 5–20 % случаев, а калечащие операции сопровождаются тяжелыми осложнениями. После лечения частота рецидивов первичного очага, регионарных и отдаленных метастазов достигает 50–60 %.

**Цель исследования.** Повышение эффективности консервативного лечения рака грушевидного синуса путем использования препарата проспицина.

**Материалы и методы.** Химиолучевое лечение с проспицином проведено 77 больным раком грушевидного синуса. Распространенность процесса: T<sub>1</sub> – 1; T<sub>2</sub> – 9; T<sub>3</sub> – 46; T<sub>4</sub> – 21. У 54 пациентов выявлены регионарные метастазы: N<sub>1</sub> – у 33; N<sub>2</sub> – у 9; N<sub>3</sub> – у 12.

Проспицин вводился в/м или в/в за 1–3 ч до лучевого лечения, начиная с 50 мг. Каждые 2–3 дня разовая доза препарата увеличивалась на 50 мг до 200 мг. Однако из-за побочных реакций 75 человек получали по 100 мг проспицина. Суммарные дозы проспицина: до 3 г получили 48 %; 3,1–4 г – 18,2 %; 4,1–5 г – 23,4%; более 5 г – 10,4 %.

**Результаты.** Введение проспицина сопровождалось побочными реакциями у 39 % больных: тошнота, легкая рвота – у 15,6 %; парестезии, кожный зуд – у 13,7 %, белок в моче – у 4,8 %; редко небольшая лейкопения – у 3,9 %. Возникали реакции после 2–3 г проспицина и быстро проходили после прекращения инъекций. Уменьшить разовую дозу проспицина пришлось у 22,3 % больных, прекратить введение препарата – у 23,3 %, но лучевая терапия из-за реакций на проспицин не прерывалась.

В результате химиолучевого лечения здоровы от 2 до 10 лет 27 (35,1 %) человек: T<sub>1</sub> – 1; T<sub>2</sub> – 5 (55,5 %); T<sub>3</sub> – 15 (32,6 %); T<sub>4</sub> – 7 (33,3 %). Рецидивы возникли у 44 (57,1 %) человек. Появление новых и рецидивы регионарных метастазов отмечены у 25 (32,5 %) пациентов, причем у 20 из них одновременно с рецидивом первичного очага. Отдаленные метастазы выявлены у 7 больных (у 5 – после появления рецидива опухоли). Только лучевым воздействием у 82 пациентов с такими опухолями излечено 23,2 % больных, а рецидивы возникли у 57,3 %.

**Выводы.** Итак, проведенное исследование показало, что проспицин прост в применении, мало токсичен и безопасен, хорошо перено-

сится большими и позволяет на 10 % улучшить результаты лучевого лечения.

*И. В. Вихлянов, А. Ф. Лазарев, Я. Н. Шойхет, А. А. Карпенко*  
**НЕОАДЪЮВАНТНАЯ СУПЕРСЕЛЕКТИВНАЯ И РЕГИОНАРНАЯ ВНУТРИАРТЕРИАЛЬНАЯ ХИМИОТЕРАПИЯ В ЛЕЧЕНИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА**

*Алтайский филиал ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Барнаул  
 ГУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер», Барнаул*

**Введение.** Низкая эффективность стандартных неоадъювантных методов лечения (предоперационной лучевой терапии, внутривенной полихимиотерапии) побуждают исследователей к поиску новых методов неоадъювантного лечения больных.

**Задача исследования.** Оценка эффективности внутриартериальной регионарной и суперселективной химиотерапии платиной и 5-фторурацилом у больных с опухолями орофарингеальной зоны.

**Материалы и методы.** Основная группа – 136 больных плоскоклеточным раком орофарингеальной зоны с распространенностью T<sub>2</sub>-T<sub>4</sub>; N<sub>1</sub>-N<sub>2</sub>. В 1-ю подгруппу основной группы вошли 124 больных. Они получили 2 курса регионарной внутриартериальной полихимиотерапии. Во 2-й подгруппе – 12 больных (2 курса суперселективной полихимиотерапии). Полихимиотерапия проводилась по схеме: цисплатин 100 мг/м<sup>2</sup> в 1-е сут; 5-фторурацил 750 мг ежедневно до ОД 5,0–6,0 г. Инфузии проводились в течение 6 ч. Перерывы между курсами составляли 10–14 дней.

В группу сравнения вошли 32 пациента с аналогичной распространенностью опухоли, которым 2 курса химиотерапии проводились внутривенно.

**Результаты.** При проведении регионарной химиотерапии объективный эффект составил 90,3 % (37 полных и 75 частичных регрессий). Местные осложнения: парез лицевого нерва – 7 больных (5,6 %), вторичное заживление раны – 3 (2,4 %), асептический некроз мягких тканей шеи – 1 больной (0,8 %). Нейтропения была зафиксирована у 27 (21,7 %) больных, а в группе сравнения – у 14 (43,75 %) пациентов. Развитие тошноты и рвоты при регионарном внутриартериальном введении химиопрепаратов наблюдалось в 2,5 раза реже по сравнению с внутривенным путем. У всех 12 пациентов, получивших 2 курса суперселективной химиотерапии, зафиксирована регрессия опухоли (5 полных и 7 частичных регрессий).

В группе сравнения объективный противоопухолевый эффект составил 63 % (6 полных и 14 частичных регрессий).

**Выводы.** Суперселективная и регионарная внутриартериальная химиотерапия обладает более выраженным непосредственным эффектом по сравнению с внутривенным введением цитостатиков, побочные эффекты значительно реже встречаются при внутриартериальном введении препаратов.

*А. М. Гарин*

**РЕВОЛЮЦИОННЫЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТЕРАПИИ ДИССЕМНИРОВАННЫХ ОПУХОЛЕЙ В КОНЦЕ XX И НАЧАЛЕ XXI ВЕКОВ**

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

Первые научные доказательства противоопухолевой эффективности синтезированных или природных лекарств зарегистрированы в середине XX века. Назову эти препараты поименно – мехлорэтамин, сарколизин, аминоптерин, актиномицины С и D.

На заре химиотерапии паллиативные эффекты отмечались при лимфомах Ходжкина, миеломной болезни, нефробластомах, экзотических солидных новообразованиях – хориокарциномах матки, семиномах, ретинобластомах. Кратковременные ремиссии фиксировались при острых лейкозах у детей. Большинство наиболее распространенных солидных новообразований: рак легкого (РЛ), рак желудка (РЖ), рак толстой кишки (РТК), рак шейки матки (РШМ), рак молочной железы (РМЖ), рак яичников (РЯ) – оказались малочувствительными к препаратам, входящим в арсенал тех лет.

К 80-м гг. XX века химиотерапия (ХТ) эволюционировала относительно успешно, но медленно. Вошли в практику лекарства с более широким спектром действия: циклофосфамид, фторурацил, доксорубин, цисплатин. Хотя в режиме монотерапии чувствительность многих опухолей к этим препаратам была выявлена, значимый эффект отмечался в 15–20 % случаев.

Методы комбинированной ХТ заняли главенствующее положение. Удавалось добиться в 40 % случаев ремиссий до года при РМЖ, РЯ, более стойких эффектов при нефробластомах, эмбриональных рабдомиосаркомах, герминогенных опухолях у мужчин и женщин. В 90-х гг. в практику вошли оксалиплатин, винорелбин, капецитабин, таксаны, топотекан, гемцитабин. Существенно увеличилась медиана выживаемости пациентов с диссеминированными РМЖ, РЯ, РТК, опухолей головы и шеи.

Вооруженные пониманием генного механизма пролиферации опухолевых клеток, ангиогенеза в опухолях, метастазирования и инвазии, молекулярные биологи конструируют таргетные лекарства: трастузумаб, ритуксимаб, мабтеру, бевацизумаб, бортезомиб, алемтузумаб, гефитиниб, иматиниб.

Создание этих препаратов и включение их в химиотерапевтические схемы удвоило медиану выживаемости больных РТК, существенно улучшило отдаленные результаты терапии РМЖ, хронических лейкозов, лимфом. Впервые после применения таргетных препаратов (сорафениб, эрлотиниб, сутент) отмечен стойкий эффект с продлением жизни больных при раке легкого, почки, поджелудочной железы.

*М. С. Гильдиева, Ш. Ш. Султанова, С. К. Гойибова,  
 Н. А. Агзамова, З. М. Еникеева*

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НА АПОПТОЗ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ К-18, К-18Х И К-48**

*Республиканский онкологический научный центр МЗ РУз, Ташкент*

**Введение.** Исследование новых производных колхицина К-18, К-18х и К-48 показало их существенное противоопухолевое и в случае К-48 иммуномодулирующее действие.

**Цель исследования.** Изучение влияния К-18, К-18х и К-48 на показатели цитогенетических изменений в опухолевых клетках и клетках костного мозга мышей, пролиферацию и апоптоз в опухолевых клетках и клетках костного мозга мышей с разными генотипами.

**Материалы и методы.** Влияние новых производных на процесс апоптоза в опухолевой ткани изучалось *in vivo* по морфологическим показателям, определение количества CD95 – с помощью моноклональных антител производства ООО «СОРБЕНТ» РФ.

**Результаты.** Ингибирование и индукция хромосомных аберраций при воздействии К-18 и К-18х была дозозависимой в клетках костного мозга мышей. К-48 при воздействии терапевтической дозы на костный мозг ингибировал аберрации хромосом у мышей высококорковых линий BALB/c и C<sub>57</sub>Bl с опухолями АКАТОЛ и меланомы В16 и у беспородных мышей с имплантированной опухолью саркома 180.

Пролиферация в клетках костного мозга была выше при воздействии терапевтической дозы К-48 у мышей всех генотипов. При воздействии К-18 и К-18х высокая доза вызывала снижение пролиферации клеток костного мозга, а терапевтическая и ниже не стимулировали деления данных клеток. В опухолевых клетках пролиферация имела дозозависимый эффект при воздействии всех препаратов; чем выше доза препаратов, тем ниже или без изменений пролиферация.

При изучении иммуномодулирующих свойств К-18 и К-18х в эксперименте на мышах C<sub>57</sub>Bl/6 с первичной меланомой В16 показано отсутствие их влияния на количество ИКК, однако усиливалась сенсбилизация к антигену В16, что проявлялось в усилении процента апоптоза (CD95<sup>+</sup>-клеток) и уменьшении размера опухоли. Под влиянием К-18х выявлен более высокий процент апоптоза, который составил 22,8±0,86 % против 18,8±0,66 % при действии К-18 (15,2±1,20 % в не леченной группе).

**Выводы.** Все исследованные вещества обладают способностью в разной степени к снижению хромосомных аберраций у опухоленосителей (более всего К-48) после проведенного лечения и увеличению апоптоза.

*М. Р. Гильмутдинова, И. Г. Гатауллин*  
**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ГОРМОНАЛЬНАЯ  
 ТЕРАПИЯ БОЛЬНЫХ РАКОМ  
 МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

*Клинический онкологический диспансер РТ, Казань  
 Казанская государственная медицинская академия*

**Задача исследования.** Изучение клинической значимости изменения уровня пролактина в крови и обоснование патогенетической терапии распространенных форм заболевания.

**Материалы и методы.** Проанализированы сведения о 112 больных раком молочной железы стадий T<sub>1-4</sub>N<sub>0-3</sub>M<sub>0-1</sub> в возрасте от 28 до 89 лет. Гормональный профиль был исследован у женщин, страдавших РМЖ до оперативного вмешательства, включал в себя исследование лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), эстрадиола, тестостерона, пролактина. Для определения гормонов в сыворотке крови использовали метод иммуноферментного анализа. Гормональный статус опухоли определяли при помощи моноклональных антител к эстрогеновым рецепторам клона 1D5 (DAKO), моноклональных антител к прогестероновым рецепторам клона PgR 636 (DAKO). Характер иммуногистохимических реакций на онкобелок HER 2/ NEU оценивали по протоколу ГЕРЦЕПТ-ТЕСТА (фирма DAKO Cytomation) визуально в баллах с учетом интенсивности окраски и процента окрашенных клеток. Статистическую обработку результатов проводили на персональном компьютере «Pentium IV» с использованием пакета прикладных программ Statsoft Statistica 6.0.

**Результаты.** При проведении многофакторного корреляционного анализа отмечено, что пропорционально увеличению уровня пролактина в сыворотке крови наблюдается снижение содержания в крови уровней ЛГ ( $r=-0,27$ ), ФСГ ( $r=-0,41$ ), эстрадиола ( $r=-0,20$ ), тестостерона ( $r=-0,22$ ). В свою очередь, высокий уровень пролактина в крови коррелировал с наличием эстрогеновых ( $r=0,60$ ) и прогестероновых ( $r=0,62$ ) рецепторов и наличием онкобелка HER2/ NEU ( $r=0,20$ ) в опухолевой ткани. Высокий уровень ЛГ и эстрадиола в сыворотке крови коррелировал с содержанием эстрогеновых рецепторов в опухолевой ткани ( $r=-0,21$ ).

**Выводы.** Коррекцию гормональных нарушений при раке молочной железы можно проводить ингибиторами пролактина и антиэстрогенами, что является перспективным направлением при лечении генерализованных форм рака молочной железы. В связи с этим практические врачи должны моделировать подход к лечению патологии молочных желез с учетом гормонального статуса женщины.

*Е. Д. Гольдберг, Т. Г. Боровская, А. В. Перова, А. В. Пахомова,  
 Е. А. Тимина, Ю. А. Щемерова, В. Е. Гольдберг*  
**ОВАРИОТОКСИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ  
 ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА  
 ЭТОПОЗИДА И ИХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ  
 КОРРЕКЦИЯ**

*ГУ НИИ Фармакологии ТНЦ СО РАМН, Томск*

Противоопухолевый препарат этопозид принадлежит к числу наиболее широко и успешно используемых в онкологической практике. Одним из возможных последствий его токсического действия на активно обновляющиеся ткани овариальных желез может быть бесплодие. В задачи работы входило изучение в эксперименте овариотоксических эффектов вепезида и поиска путей их снижения. Эксперименты проведены на 205 белых крысах линии Вистар. 95 из них составили контрольную группу. Этопозид (ЛЭНС, ЗАО «Верофарм», Москва) вводили крысам однократно внутривенно в МПД. Овариотоксичность оценивали в ранние (в течение 1 мес) и отдаленные (через 3 и 6 мес) сроки после введения препарата. В качестве овариопротектора был использован эстроген-гестагенный препарат Логест (АО Шеринг, Франция). Морфологическое состояние яичников оценивали путем подсчета их структурно-функциональных элементов на серийных парафиновых срезах (через весь орган, толщиной 5 мкм, окраска гематоксилин-эозином). Функциональное состояние яичников оценивали по продолжительности эстрального цикла и его отдельных фаз, способности к спариванию, его эффективности, значениям эмбриональной гибели. Морфологический анализ показал, что в ранние сроки после введения этопозид наблюдалось сокращение (в 2 раза по сравнению с контролем) количества примордиальных и многослой-

ных фолликулов. Это привело к более раннему, чем в контроле, истощению резервных возможностей половых желез. В ранние сроки после введения этопозид (вепезида) отмечалось увеличение продолжительности эстрального цикла крыс за счет возрастания длительности стадии метаэструс. Стадия эструс при этом сокращалась. Этот токсический эффект носил обратимый характер и не оказывал существенного влияния на способность к спариванию. Эффективность спаривания снижалась только в первые дни после введения препарата. Возможность зачатия в остальные дни опыта сохранялась, но при этом выявлялась повышенная эмбриональная гибель. При совместном применении препарата Логест и этопозид в яичниках крыс отмечалось более высокое, чем при введении одного цитостатика, число генеративных элементов. Таким образом, в отдаленные сроки после введения этопозид возможность к зачатию сохранялась, но вероятность сохранения беременности была снижена. Введение этопозид приводило также к сокращению длительности репродуктивного периода. Препарат Логест экранировал яичники от токсического действия цитостатика.

*Т. Б. Григоренко<sup>1</sup>, А. Х. Сабиров<sup>2</sup>, А. А. Шайн<sup>3</sup>,  
 А. В. Симонов<sup>1</sup>, Н. М. Федоров<sup>3</sup>, Г. Р. Хасанова<sup>2</sup>,  
 И. Е. Алехин<sup>1</sup>, А. А. Важенина<sup>1</sup>, М. В. Антонов<sup>1</sup>*  
**НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ЛЕЧЕНИЮ  
 РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ,  
 ОСЛОЖНЕННОГО ВПЧ 16, 18 ТИПОВ**

<sup>1</sup>Тюменский областной онкологический диспансер

<sup>2</sup>Центр молекулярно-генетической диагностики, Тюмень

<sup>3</sup>Тюменская государственная медицинская академия

**Введение.** В настоящее время известна зависимость возникновения РМЖ и его метастазирования от соотношения метаболитов эстрогена 16 $\alpha$ -гидроксистерона (16 $\alpha$ -ОНЕ1) и 2-гидроксистерона (2-ОНЕ1). Важную роль в прогнозе играет наличие инфицированности организма женщины вирусом папилломы человека (ВПЧ) 16, 18 типов, который приводит к преобладанию канцерогенного метаболита эстрогена – 16 $\alpha$ -ОНЕ1, снижающего противоопухолевую устойчивость организма.

**Цель работы.** Изучение действия препарата индинол у больных раком молочной железы, осложненного ВПЧ 16, 18 типов.

**Материалы и методы.** Объектом нашего исследования стали 2 группы пациенток: 1-я (опытная) – женщины, больные РМЖ 1–3 стадий, осложненного ВПЧ 16, 18 типов, получающие в дополнение к адьювантной ХТ лечение индинолом (n=20); 2-я (контрольная) – женщины, больные РМЖ 1–3 стадий, осложненного ВПЧ 16, 18 типов, проходящие лечение только стандартными схемами ХТ (n=20).

В обеих группах до начала и по окончании лечения проводилась определение ВПЧ 16, 18 типов посредством ПЦР-диагностики. Определение изменения генов (p53, k-ras, B-raf, E-kadherin, p-16, 14-3-3 сигма) при помощи ПЦР по стандартной фенольно-хлороформной методике. Иммунологический статус исследовался с применением моноклональных антител (CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD44, CD 54, CD38, CD95). Экспрессию уровня метаболитов эстрогенов проводили по ИФА-методике (Elisa).

**Результаты.** В опытной группе по окончании курса ХТ в сочетании с лечением индинолом произошла элиминация ВПЧ 16, 18 у всех пациенток (n=20). В контрольной группе (n=20) ВПЧ 16, 18 не элиминировался.

По окончании лечения в опытной группе существенно изменились иммунологические показатели (CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD44, CD 54, CD38, CD95) у всех пациенток (n=20).

В контрольной группе (n=20) показатели иммунного статуса несколько ухудшились, а именно произошло снижение CD3, CD4, гиперэкспрессия CD38, увеличение количества циркулирующих иммунных комплексов, особенно легкомолекулярных, к концу лечения.

В опытной группе у всех пациенток (n=20) были обнаружены мутации генов (p53, E-kadherin, k-ras, B-raf), у 19 из них по окончании лечения эти мутации не обнаружались. В контрольной группе мутации генов (p53, E-kadherin, k-ras, B-raf) также обнаружались у всех пациенток. По окончании 6 курсов ХТ у 4 пациенток мутации p53, E-kadherin сохранились.

**Выводы.** Таким образом, применение препарата индинол в сочетании с адьювантной химиотерапией у больных РМЖ, осложненного ВПЧ 16, 18, приводит к ингибированию ВПЧ, улучшению иммунологического, молекулярно-генетического и гормонального статуса пациентов. Это способствует преодолению химиорезистентности и ведет к улучшению показателей результатов лечения РМЖ.

*Т. А. Гуськова<sup>1</sup>, З. М. Елисеева<sup>1</sup>, Л. М. Чувильская<sup>1</sup>,  
Е. М. Трещалина<sup>2</sup>*

### ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРЕПАРАТОВ СОПРОВОЖДЕНИЯ ХИМИОТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

<sup>1</sup>Комитет по этике при Федеральном органе контроля качества, эффективности и безопасности, Москва

<sup>2</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

Применение противоопухолевых средств часто сопровождается серьезными побочными и токсическими явлениями. Осложнения химиотерапии зависят от типа и дозы препаратов, длительности лечения. Мишенями для токсического действия являются не только быстро обновляющиеся клетки, но и практически все нормальные ткани организма.

Наиболее часто при химиотерапии встречаются следующие виды токсичности: гастроинтестинальная токсичность, возникающая в результате повреждения слизистых оболочек полости рта и кишечника, токсического поражения печени (стоматит, энтерит, диарея и т.п.); тошнота и рвота центрального происхождения; гематотоксичность, вызванная угнетением в основном миело- и тромбопоэза, иногда – эритропоэза с резким и/или длительным снижением числа нейтрофилов, тромбоцитов и эритроцитов, что приводит к развитию инфекционных, иногда септических (фебрильная нейтропения) или геморрагических осложнений; кардиотоксичность – следствие деструктивных изменений в сердце, которая проявляется гипотонией, нарушением пульса, болями в области сердца и может приводить к кардиофиброзу.

Существуют 4 степени выраженности побочного действия:

- 1 – незначительные изменения, не влияющие на общее состояние и не требующие коррекции;
- 2 – умеренные нежелательные явления с нарушением жизнедеятельности и изменением лабораторных анализов, но не требующие коррекции;
- 3 – значительные побочные или токсические явления, требующие коррекции, отсрочки или прекращения лечения;
- 4 – опасные для жизни и требующие немедленной отмены лечения.

Лечение препаратами, вызывающими побочное действие 2-й и 3-й степеней, невозможно без применения препаратов сопровождения, т.е. фармакологических средств, предупреждающих или уменьшающих отрицательные проявления (стимуляторы или корректоры кроветворения, противорвотные средства, кардиопротекторы, а также симптоматические средства).

Применение различных групп фармакологических средств в качестве препаратов сопровождения при химиотерапии онкологических больных является основанием для обязательной оценки безопасности сочетанного использования таких препаратов с цитостатиками.

В докладе рассматриваются методологические подходы к оценке безопасности одновременного применения 2 и более препаратов из различных фармакологических групп на стадии доклинического и клинического изучения.

*О. С. Жукова, Л. В. Фетисова,*

*М. В. Киселевский, Г. К. Герасимова*

### ВЛИЯНИЕ ТЕРАФТАЛА И КАТАЛИТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ТЕРАФТАЛ+АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА НА ЦИТОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

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

**Задача исследования.** Изучение влияния каталитической системы терафтал + аскорбиновая кислота (ТФ + АК) и ее компонентов на цитолитическую активность эффекторных клеток противоопухолевого иммунитета – мононуклеарных лейкоцитов человека (МНК).

**Материалы и методы.** В экспериментах использовали лекарственную форму ТФ (4,5-октакарбокисфталацианин кобальта, синтези-

рован в ФГУП «ГНЦ «НИОПИК») и аптечную 5%-ную аскорбиновую кислоту в ампулах. Исследованные концентрации ТФ: 0,5; 5 и 50 мкМ. Соотношение молярных концентраций ТФ и АК в каталитической системе [1 : 10]. МНК выделены из периферической крови здоровых доноров. МНК инкубировали с ТФ, АК и ТФ + АК в течение 48 ч. В качестве опухолевых клеток-мишеней использовали клетки миеломоноцитарного лейкоза человека линии К562. Цитотоксический эффект МНК (интактных, инкубированных с ТФ, АК, ТФ + АК), а также влияние изучаемых препаратов на жизнеспособность опухолевых клеток и МНК оценивали по выживаемости клеток К562 с помощью МТТ-теста.

**Результаты.** Компоненты каталитической системы – ТФ и АК в исследованных концентрациях не влияли на жизнеспособность МНК и клеток лейкоза К562, но при этом усиливали спонтанную цитолитическую активность МНК. ТФ индуцировал усиление цитотоксичности МНК на 31,7 %, АК на 15–18 %. Каталитическая система, содержащая ТФ (50 мкМ) и АК (500 мкМ), приводила к гибели 63,3 % клеток К562 и 45,0 % МНК. При меньших концентрациях ТФ в составе каталитической системы наблюдалась некоторая стимуляция литической активности МНК, сопоставимая с действием АК. Отсутствие суммации эффекта ТФ (50 мкМ) и АК (500 мкМ) при их одновременном применении, вероятно, связано с гибелью части МНК.

**Выводы.** ТФ, не являясь цитотоксическим агентом, вызывает на 31,7 % стимуляцию спонтанной литической активности мононуклеарных лейкоцитов крови здоровых доноров в отношении опухолевых клеток К562. Выявленный эффект может вносить определенный вклад в противоопухолевую активность каталитической системы ТФ + АК.

*О. С. Жукова, Л. В. Фетисова,*

*Г. К. Герасимова, М. В. Киселевский*

### ДЕЙСТВИЕ ЦИСПЛАТИНА И ЛИМФОКИН-АКТИВИРОВАННЫХ КИЛЛЕРОВ НА КЛЕТКИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО ЛИНИИ А549

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

**Цель исследования.** Изучение эффективности комбинированного воздействия цисплатина (ДДП) и лимфокин-активированных киллеров (ЛАК) на клетки немелкоклеточного рака легкого человека линии А549.

**Материалы и методы.** Мононуклеарные лейкоциты (МЛ) выделены из периферической крови здоровых доноров. Клетки-эффекторы ЛАК получали после инкубации МЛ с интерлейкином-2 (ИЛ-2) в течение 2 сут. Клетки-мишени А549 инкубировали в течение 24 ч с ДДП (Тева, Израиль). Через сутки клетки отмывали, в пробы вносили ЛАК (соотношение эффектор/клетка – мишень 1: 5) и инкубировали еще 24 ч. Цитолитический эффект ЛАК в отношении клеток А549 оценивали с помощью МТТ-теста. Экспрессию поверхностных маркеров клеток-эффекторов определяли при помощи моноклональных антител против соответствующих антигенов методом проточной цитофлуориметрии.

**Результаты.** ЛАК, полученные после инкубации МЛ с ИЛ-2, характеризовались высоким уровнем экспрессии антигенов натуральных киллеров (CD16, CD56), молекул адгезии (CD58) и активационных антигенов (CD38). При этом цитотоксическое действие МЛ на интактные клетки А549 возрастало с  $54 \pm 3,7$  % до  $78 \pm 5,9$  % ( $p < 0,05$ ). Установлены показатели цитотоксичности ДДП в отношении клеток А549:  $IC_{30} = 2,5 \times 10^{-5}$  мкМ,  $IC_{50} = 5 \times 10^{-5}$  мкМ. При внесении ЛАК в культуру выживших после инкубации с ДДП опухолевых клеток в концентрации, соответствующей  $IC_{30}$  и  $IC_{50}$ , через 24 ч инкубации ингибирование роста клеток А549 составляло 90 %. ДДП в концентрациях ниже  $IC_{30}$  не оказывал достоверного цитотоксического действия. Последующая инкубация опухолевых клеток и ЛАК приводила к гибели 69 % опухолевых клеток, что сопоставимо с цитотоксическим действием одних ЛАК на интактные опухолевые клетки.

**Вывод.** ЛАК способны эффективно лизировать опухолевые клетки, выжившие после воздействия ДДП в концентрациях, соответствующих  $IC_{50}$ ,  $IC_{30}$ . Сочетание химио- и ЛАК-терапии может рассматриваться как перспективное направление в лечении больных немелкоклеточным раком легкого.

Е. П. Зуева, К. А. Лопатина, Т. Г. Разина, Е. Н. Амосова,  
С. Г. Крылова, А. М. Гурьев

### ПОЛИСАХАРИДЫ АИРА БОЛОТНОГО В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ПЕРЕВИВАЕМЫХ ОПУХОЛЕЙ

ГУ НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН, Томск

**Введение.** Химиотерапия, в большинстве случаев являющаяся единственным высокоэффективным методом лечения онкопатологии, имеет ряд недостатков, которые часто являются причиной изменения схемы лечения или его отмены. Для оптимизации эффекта цитостатиков используют различные препараты, в том числе, созданные на основе лекарственных растений и биологически активных извлечений из них.

**Цель исследования.** Поиск и углубленное изучение наиболее эффективных водорастворимых полисахаридов (ВРПС) из растений в условиях экспериментальной химиотерапии опухолей животных.

**Материалы и методы.** Карциному легких Льюис (LLC), меланому В16 пересаживали мышам  $C_{57}Bl/6$  внутримышечно, карциносаркому 256 Уокера (W256) – крысам Вистар под кожу спины. ВРПС вводили курсом 10–12 раз внутривентриально. Циклофосфан (ЦФ) и 5-фторурацил (5-ФУ) вводили в режиме, вызывающем умеренное торможение роста и метастазирования опухолей. Вычисляли ТРО %, частоту и индекс ингибирования метастазирования, количество, площадь либо массу метастазов. Состояние иммунологической реактивности мышей с опухолями определяли по функциональной активности клеток лимфоузлов в тесте нейтрализации опухолевых клеток Винна. Содержание липидов определяли фосфорнованилиновым методом. Статистическую обработку проводили с помощью критерия Вилкоксона-Манна-Уитни и точного теста Фишера.

**Результаты.** Скрининговое исследование 11 полисахаридов растений Сибири, вводимых курсом в дозе 10 мг/кг мышам с LLC, показало, что ВРПС одуваника лекарственного, подорожника большого, левзеи сафлоровидной и липы сердцевидной усиливают действие циклофосфана в отношении основного опухолевого узла, ВРПС солодки голой и родиолы розовой повышали антиметастатический эффект ЦФ, ВРПС багульника болотного, эхинацеи пурпурной, мать-и-мачехи обыкновенной, аира болотного сочетали оба этих эффекта, а ВРПС календулы лекарственной были неактивными. В качестве наиболее перспективных для создания препарата-корректора цитостатической терапии определены ВРПС аира болотного. Показана их способность ингибировать развитие LLC, В16 и W256, а также повышать эффективность ЦФ и 5-ФУ в отношении данных штаммов. Выявлено свойство ВРПС аира стимулировать функциональную активность клеток лимфоузлов по отношению к опухолевым клеткам при их изолированном введении и на фоне вызванной цитостатиком иммунодепрессии. Доказано, что у животных с перевиваемыми опухолями полисахариды аира проявляют гиполлипидемическое действие и потенцируют снижение концентрации липидов под действием циклофосфана.

М. С. Калищьян, Л. А. Седякова, Н. В. Андропова,  
Е. М. Трещалина, Н. Т. Райхлин, Г. К. Герасимова

### ВОЗМОЖНОСТЬ ПРОВЕДЕНИЯ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У СОБАК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КАТАЛИТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ТЕРАФТАЛ + АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА

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

**Введение.** При раке молочной железы (РМЖ) у собак основным видом лечения является хирургическое, возможности которого ограничены отсутствием четких хирургических границ, размером опухоли, невозможностью закрытия кожного дефекта и инвазией в подлежащие ткани. Циторедуктивная предоперационная (неoadьювантная) химиотерапия (ХТ) позволяет расширить возможности операции. Стандартные схемы ХТ, в частности, циклофосфамид + доксорубин (ЦФ + Доксо), не дают полного эффекта и сопровождаются гематотоксичностью. Повысить эффективность ХТ можно с помощью новых препаратов, не проявляющих данной токсичности и активных при РМЖ. В качестве кандидата для полихимиотерапии выбрана новая бинарная каталитическая система терафтал + аскорбиновая кислота (ТФ + АК) без гематотоксичности, кото-

рая проходит клинические испытания по 2-й фазе в онкологической клинике.

**Цель исследования.** Экспериментальная оценка эффективности тройной схемы ЦФ + Доксо + (ТФ + АК) при развившемся РМЖ.

**Задачи исследования.** 1) Изучить эффективность тройной комбинации на различных моделях РМЖ под контролем лекарственного патоморфоза; 2) Изучить эффективность тройной комбинации при неoadьювантной химиотерапии РМЖ у собак.

**Материалы и методы.** Использованы мыши-самки  $C_{57}Bl/6$  с развившейся Са-755, мыши-самки *Balb/c nude* с ксенографтом SKBR3 (виварий ГУ РОНЦ) и 15 сук различных пород с цитологически верифицированным спонтанным РМЖ (амбулаторный прием в СББЖ САО г.Москвы). ХТ выполняли системно, препараты вводили парентерально последовательно в оптимальных дозах, проведено 1 или 2 курса лечения (интервал 7–14 дней). После мастэктомии опухолевый материал подвергали патоморфологическому исследованию. Оценку эффективности проводили по стандартным критериям: ТРО%, время удвоения опухоли ( $\tau$ ) и степень лекарственного патоморфоза.

**Результаты.** Показано, что на Са-755 ( $\tau=3$ ) при терапии (ТФ + АК) ТРО $_{max}=63$  %,  $\tau=11$ , 2-я ст. патоморфоза; для ЦФ + Доксо ТРО $_{max}=66$  %,  $\tau=14$ , 3-я ст. патоморфоза; а для ЦФ + Доксо + (ТФ + АК) ТРО $_{max}=80$  %,  $\tau=16$  (различия достоверны,  $p<0,05$ ), 3–4-я ст. патоморфоза. На мышках с SKBR3 стандартная ХТ оказалась малоэффективной, ТРО $<50$  %, при терапии ЦФ + Доксо + (ТФ + АК) терапевтического выигрыша нет. У собак, получивших ЦФ + Доксо + (ТФ + АК) (n=7) или ЦФ + Доксо (n=8), циторедуктивного эффекта не получили.

**Выводы.** Каталитическая система (ТФ + АК) в сочетании с ЦФ + Доксо в неoadьювантном режиме дает терапевтический выигрыш только при чувствительной к ХТ аденокарциноме Са-755 мышей. На малочувствительной опухоли человека и нечувствительном РМЖ у собак включение (ТФ + АК) в схему ЦФ + Доксо для циторедуктивной неoadьювантной ХТ нецелесообразно.

Е. В. Катаева, А. К. Голенков,

Г. А. Дудина, И. В. Буравцова,

Ю. Б. Черных, Е. В. Трифонова

### ХИМИОТЕРАПИЯ ПЕРВИЧНЫХ И РЕЗИСТЕНТНЫХ БОЛЬНЫХ В-КЛЕТОЧНЫМ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ ФЛУДАРАБИНОМ И ЦИКЛОФОСФАНОМ

Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского, Москва

**Задача исследования.** Сравнение клинической эффективности лечения первичных и резистентных больных В-клеточным хроническим лимфолейкозом (В-ХЛЛ) флударабином и циклофосфаном (FC).

**Материалы и методы.** В исследование были включены 62 больных В-ХЛЛ со II-IV стадиями по Rai, из них 24 первичных. 38 пациентов получали первоначально лечение лейкераном, циклофосфаном, курсы СОР, СНОР в течение 7,5 (4–28), среднее количество курсов составило 4,5 (3–14); у всех 38 зафиксирована резистентность к проводимому ранее лечению или развился рецидив заболевания. Всем 62 больным была проведена химиотерапия по программе FC (флударабин 25 мг/м<sup>2</sup> в виде в/в инфузии в течение 2 дней, циклофосфан 200 мг/м<sup>2</sup> внутривенно в течение 3 дней, курсы повторяли каждые 4 нед), среднее количество курсов 6 (4–8).

**Результаты.** Эффективность лечения больных ХЛЛ оценивали по критериям National Cancer Institute USA как полную (ПР), частичную ремиссию (ЧР), стабилизацию (СБ) и прогрессирование болезни (ПБ). В группе первичных больных (n=24) достигнуто 8 ПР (33,3 %), 9 ЧР (37,5 %), у 7 пациентов – ПБ (29,2 %). В группе резистентных и рецидивных больных (n=38) ХЛЛ результаты химиотерапии были другими: у 5 больных – ПР (13,2 %), у 16 – ЧР (42,1 %), у 8 зафиксирована СБ (21,1 %) и у 9 развилось ПБ (23,7 %).

**Выводы.** Таким образом, проведенные исследования показали, что программа FC эффективнее у первичных больных ХЛЛ и при использовании в качестве химиотерапии первой линии дает лучшие результаты.

*Л. М. Когония<sup>1</sup>, А. Н. Северцев<sup>2</sup>, А. Ю. Федотов<sup>1</sup>*  
**ПЕРВАЯ ЛИНИЯ ХИМИОТЕРАПИИ  
 (FOLFOX, FOLFIRI) ПРИ  
 ДИСSEМИНИРОВАННОЙ ФОРМЕ  
 КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА**

<sup>1</sup>ГУ ОД №2, Москва

<sup>2</sup>ЦКБ МПС №1, Москва

**Задача исследования.** Сравнение эффективности и токсичности 2 режимов полихимиотерапии при лечении пациентов с диссеминованными формами колоректального рака.

**Материалы и методы.** С 2004 по 2006 гг. в проспективное исследование были включены 36 ранее не леченных пациентов с морфологически верифицированным диагнозом. Все больные ранее перенесли оперативное вмешательство – удаление первичной опухоли. По данным гистоморфологического исследования у всех больных имела место аденокарцинома. Пациенты были рандомизированы на 2 равноценные группы. У всех пациентов имели место объективно измеряемые отдаленные метастазы в печень, легкие, забрюшинные лимфатические узлы. 18 больных получили полихимиотерапию по схеме FOLFOX (элоксатин 85 мг/м<sup>2</sup> в/в в 1-й день, лейковарин 200 мг/м<sup>2</sup> 1–3-й дни, 5-фторурацил 400 мг/м<sup>2</sup> в/в струйно 1–3-й дни,) и еще 18 пациентов получали лечение по схеме FOLFIRI (капто 180 мг/м<sup>2</sup> в/в в 1-й день, лейковарин 200 мг/м<sup>2</sup> в/в 1–3-й дни, фторурацил 400 мг/м<sup>2</sup> в/в струйно в 1–3-й дни). Интервал между курсами лечения составлял 14 дней. После 3-го курса полихимиотерапии всем больным проводились контрольные обследования с целью оценить эффективность лечения.

**Результаты.** При полихимиотерапии по схеме FOLFOX регрессия опухоли более, чем на 25 %, имела место у 7 из 18 пациентов, а при режиме Folfiri – у 5 из 18 больных. Данные по стабилизации и прогрессированию опухолевого процесса были одинаковы в обеих группах. Побочные явления при применении схемы FOLFOX: нейропатия – у 4 больных, нейтропения – у 3, диарея – у 3. При схеме FOLFIRI нейтропения отмечалась у 2 больных, дерматит – у 1, диарея – у 3. Все побочные явления носили обратимый характер и были скорректированы лекарственной терапией.

**Выводы.** Сравнимые схемы полихимиотерапии FOLFOX, FOLFIRI (1-я линия терапии) продемонстрировали удовлетворительную переносимость и равную эффективность в лечении больных генерализованной формой колоректального рака.

*Л. М. Когония, А. Ю. Федотов*

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ  
 РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ  
 ПРИМЕНЕНИЯ КОМБИНАЦИЙ  
 ДОКСОРУБИЦИН + ПАКЛИТАКСЕЛ, САФ  
 В ТЕРАПИИ ПЕРВОЙ ЛИНИИ  
 ДИСSEМИНИРОВАННОГО РАКА  
 МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

ГУ ОД № 2, Москва

**Задача исследования.** Оценка эффективности и токсичности комбинации доксорубицин + паклитаксел и САФ, применявшихся в качестве 1-й линии терапии генерализованных форм рака молочной железы.

**Материалы и методы.** Ретроспективному анализу были подвергнуты данные по 48 больным. 1-я группа пациентов получала комбинацию доксорубицин + паклитаксел (доксорубицин 50 мг/м<sup>2</sup> в/в в 1 день, паклитаксел 175 мг/м<sup>2</sup> в/в длительная инфузия в течение 2,5 ч). 2-я группа пациенток получала лечение по схеме САФ (доксорубицин 50 мг/м<sup>2</sup> в/в струйно, циклофосфан 500 мг/м<sup>2</sup> в/в, 5-фторурацил 500 мг/м<sup>2</sup> в/в в 1 день). Интервал между курсами лечения составлял 21 день. Средний возраст больных в 1-й группе составил 52,4 года, во 2-й – 47,8. В 1-й группе 20 % больных, во 2-й группе – 9 % ранее получали химиотерапию с адьювантной целью. Метастазы в печень, легкие были выявлены у 47 % больных.

**Результаты.** Общая эффективность в 1-й группе составила 60 % (ПЭ 28 %, ЧР 32 %), во 2-й – 42 % (ПЭ 11,2 %, ЧР 30,8 %). Комбинация доксорубицина с паклитакселем оказалась более эффективной, чем САФ, при наличии метастазов в печень, легкие. При поражении костей отмечена невысокая эффективность обеих комбинаций. В процессе химиотерапии в обеих группах отмечались преходящие побочные

явления в виде тошноты, рвоты, дерматита, гематологической токсичности, которые не требовали лекарственной коррекции.

**Выводы.** При анализе нашего материала получены данные о более выраженной эффективности комбинации доксорубицин + паклитаксел, чем САФ в терапии 1-й линии генерализованных форм рака молочной железы.

*Л. М. Когония*

**ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ОТЕЧЕСТВЕННОГО  
 ПРЕПАРАТА АРАНОЗА В ВИДЕ МОНОТЕРАПИИ  
 ПРИ ДИСSEМИНИРОВАННОЙ ФОРМЕ РАКА  
 ЖЕЛУДКА**

ГУ ОД № 2, Москва

**Задача исследования.** Оценить эффективность и токсичность монокимиотерапии аранозой в лечении генерализованного рака желудка.

**Материалы и методы.** Лечение в виде монотерапии аранозой проводилось 26 больным с морфологически верифицированным интратрабеллярным раком желудка. В исследование были включены 25 мужчин, 1 женщина (возраст от 37 до 72 лет). Тотальное поражение желудка имело место у 13 больных, антрального отдела желудка – у 8, поражение антрального отдела с переходом на пищевод – у 1, кардиального отдела – у 4 больных. Цитостатик вводился в дозе 550–800 мг/м<sup>2</sup> в/в в 1–3-й дни, интервал между курсами лечения составлял 21 день. Лечение продолжалось до признаков прогрессирования процесса; при стабилизации после 2-х курсов лечения больного переводили на другие схемы химиотерапии.

**Результаты.** Общая эффективность при применении отечественного препарата в виде монокимиотерапии при диссеминованном раке желудка составила 19,2 % (ЧЭ менее 50 % – 19,2 %), стабилизация опухолевого процесса имела место у 69,2 % больных, прогрессирование заболевания отмечалось у 11,6 %. В ходе исследования у ряда больных отмечались побочные явления преимущественно диспептического характера: у 21 из 26 больных имела место тошнота, рвота после 1 дозы препарата. Не было отмечено дозовой зависимости в развитии рвоты. Диарея отмечалась у 2 из 26 пациентов. Гематологической токсичности в этой группе больных не наблюдалось.

**Выводы.** Отечественный препарат араноза в режиме монотерапии продемонстрировал определенную противоопухолевую активность при раке желудка – одной из рефрактерных к специальным методам лечения форм злокачественных новообразований. Представляется интересным продолжить исследования в разработке сочетанных, комбинированных схем химиотерапии с известными препаратами + араноза при раке желудка. Побочные явления, наблюдавшиеся в ходе данного исследования, имели обратимый характер и не требовали лекарственной коррекции.

*А. М. Козлов, Н. М. Перетолчина, С. М. Киселев, Е. Б. Доронникова, Д. В. Улезько*

**ИЗУЧЕНИЕ АНТИРЕЦИДИВНОЙ  
 И АНТИМЕТАСТАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ  
 РУЛИДА В РЕЖИМАХ МОНОТЕРАПИИ  
 И СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ  
 С ДИСPLАТИНОМ НА МОДЕЛИ  
 ИСКУССТВЕННОГО РЕЦИДИВИРОВАНИЯ**

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

**Введение.** Рецидивирование опухолей после хирургического удаления наряду со способностью к метастазированию является одним из ключевых признаков их злокачественности. Данное обстоятельство, а также интересы клинической практики обосновывают актуальность разработки способов эффективной профилактики рецидивирования злокачественных новообразований.

**Цель исследования.** Изучение антирецидивной (А/Р) и антиметастатической (А/М) активности рулида в режимах монотерапии и сочетанного применения с дисплатином на модели искусственного рецидивирования карциномы легкого Льюиса.

**Материалы и методы.** Метод искусственного рецидивирования основан на имплантации дозированного количества клеток карциномы легкого Льюиса под хирургический шов, наложенный на разрез кожного покрова мышам BDF1. Опухолевые клетки трансплантиро-

вали через 48 ч после хирургической операции. Рулид в монотерапии применяли перорально 2 раза в сут в дозе 25 мг/кг в течение 10 дней до трансплантации опухолевых клеток (схема I); после перевивки опухоли в течение 10 дней, начиная со 2-х сут после трансплантации опухоли (схема II); в течение 6 дней до и 6 дней после трансплантации опухоли (схема III). При комбинированном лечении рулид применяли по схемам II и III, цисплатин вводили внутривенно, однократно в дозе 5 мг/кг на 2-е сут после трансплантации опухоли. Антирецидивный эффект оценивали по торможению роста рецидива (ТРП, %), антиметастатический эффект (ТРМ, %) – по массе легких, пораженных метастазами, при забое животных контрольных и терапевтических групп в конце опыта (32-е сут).

**Результаты.** Применение рулида в монотерапии по схеме I не снижало частоты рецидивов и динамики их развития, по схемам II и III оказывало выраженный терапевтический эффект. Непосредственно после окончания курса терапии ТРП составляло 48 % и 60 % соответственно. Следует отметить, что при использовании рулида по изученным схемам выявлено выраженное подавление метастазирования опухоли, составляющее 68 % (схема I), 78 % (схема II) и 44 % (схема III). Применение ДДП в монорежиме оказывало умеренное торможение роста рецидивной опухоли. Непосредственно после окончания курса лечения индекс ТРП составил 56 %. Антиметастатического действия при этом не отмечено. При сочетанном применении рулида и ДДП выявлено значительное усиление антирецидивного действия препаратов: ТРП на 10-е сут – 90, 89 %, на момент забоя – 37 и 27 % (для схем II и III соответственно). В группах комбинированного лечения наблюдалось торможение роста метастазов в легких на 40 % (схема II) и 60 % (схема III) по сравнению с антиметастатическим действием ДДП в монотерапии (ТРМ=5 %).

**Выводы.** Рулид проявляет антирецидивную и антиметастатическую активность в отношении карциномы легкого Льюис в режимах монотерапии и комбинированного применения с цисплатином. Полученные данные свидетельствуют о возможности использования комбинации рулида и цисплатина для адьювантной терапии злокачественных новообразований.

*В. А. Кочетков*

### ВОЗМОЖНОСТИ ХИМИОТЕРАПИИ МЕТАСТАТИЧЕСКОЙ МЕЛАНОМЫ

*ФГУ «12 ЛДЦ Минобороны России», Москва*

Меланома кожи – крайне неблагоприятное в прогностическом отношении заболевание, которому свойственно агрессивное течение и быстрая генерализация опухолевого процесса. Несмотря на достижения лекарственной терапии злокачественных опухолей, успехи при химиотерапии меланом остаются весьма скромными, о чем свидетельствуют устойчиво низкие показатели выживаемости: средняя продолжительность жизни больных на этапе диссеминации колеблется от 6 до 9 мес, общая 5-летняя выживаемость составляет менее 5 %. В отдельных случаях 5-летняя выживаемость больных, леченных с правильно подобранной терапией, может достигать 33–47 %. Данные факты указывают на необходимость как совершенствования уже имеющихся терапевтических подходов, так и поиска новых, более эффективных методов лекарственного лечения метастатической меланомы.

В клинической практике накоплен значительный опыт использования различных препаратов, которые в зависимости от принадлежности к той или иной группе определяют метод системного воздействия при метастатической меланоме – химиотерапевтический, иммунотерапевтический и комбинированный химиоиммунотерапевтический.

Спектр цитостатиков, применяемых как в однокомпонентных, так и в комбинированных химиотерапевтических режимах, в основном представлен алкилирующими агентами (дакарбазин, цисплатин), производными нитрозомочевины (ломустин, нидран), и винкалоидами.

Дакарбазин является одним из наиболее активных препаратов, «золотым стандартом» монотерапии меланом. Также он входит в комбинированные схемы химиотерапевтических режимов. Тем не менее продолжают поиски наиболее эффективных химиоиммунотерапевтических режимов лечения меланомы.

Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина РАМН рекомендует при лечении диссеминированной меланомы препарат араноза, который обладает противоопухолевым действием (ин-

гибирует синтез ДНК в опухолевых клетках). По силе и спектру противоопухолевого действия араноза близка к нитрозомочевине. Наиболее чувствительна к аранозе меланома В16 – 89 %.

В отделении химиотерапии 12 ЛДЦ применяются комбинированные химиотерапевтические схемы лечения, в состав которых входит араноза. Эти схемы применялись больным, у которых не было положительно ответа при лечении метастатических меланом дакарбазином в монорежиме, а также в комбинации с цисплатином и иммунотерапией интерфероном альфа-2 между курсами химиотерапии.

Иммунотерапия меланом широко используется в практике отделения в связи с тем, что меланома кожи является иммуногенной опухолью, т.е. способной при определенных условиях стимулировать противоопухолевый иммунный ответ.

В отделении химиотерапии оценка химиоиммунотерапии с аранозой проведена 19 больным метастатической меланомой.

Проводился комбинированный химио-иммунотерапевтический режим:

Араноза 500 мг/м<sup>2</sup> – 1-й, 4–8-й, 11-й дни в/в капельно, винбластин 1,5 мг/м<sup>2</sup> – 1-й и 11-й дни в/в капельно. Интервал между курсами – 3–4 нед. Между курсами химиотерапии – иммунотерапия интерфероном альфа-2 по 3 млн.ед. в/м через день.

Проводились 5–6 курсов химиоиммунотерапии с последующим продолжением иммунотерапии в течение 28 нед.

Вводили цисплатин 100 мг – 1 день; винкрестин 2,0 мг – 1 день; аранозу – 1000 мг – 2-й, 3-й, 4-й дни с последующей иммунотерапией между курсами, после 6 курсов химиоиммунотерапии в течение 28 нед – интерферон альфа-2 по 3 млн.ед. в/м через день, или виферон в свечах по 1 млн.ед. через день.

Полные и частичные регрессии зарегистрированы при метастазах в коже, подкожной клетчатке, лимфатических узлах. Полная регрессия у 2 больных, частичная регрессия – у 6, стабилизация процесса более 6 мес – у 6 больных, отрицательный результат – у 5. Отрицательный результат был получен у больных с метастатическим поражением легких, печени, костей скелета, головного мозга, мягких тканей, т.е. у входящих в группу с неудовлетворительным прогнозом.

Наиболее значимыми параметрами, определяющими прогноз больных меланомой на этапе диссеминации, являются характер и локализация метастазирования. Но могут быть и исключения: наблюдалась частичная регрессия и стабилизация процесса в течение 6 мес у больной с метастатической меланомой (множественные метастазы кожи, мягких тканей, головного мозга). Наблюдается полная регрессия метастатической меланомы (метастазы в головной мозг, полость носа, мягкие ткани лица).

Возможно, что положительный ответ на лечение диссеминированных меланом преобладает при применении химиоиммунотерапевтических схем, в состав которых входит араноза, в основном у больных, входящих в благоприятную прогностическую группу.

Применение аранозы при лечении диссеминированной меланомы достаточно эффективно.

Выживаемость больных с метастатической меланомой при применении дакарбазина и аранозы в различных химиотерапевтических режимах по литературным данным одинакова.

Однако, учитывая практические наблюдения при применении аранозы, все больше данных за положительный ответ при лечении метастатической меланомы в обеих прогностических группах при отрицательном ответе на дакарбазин.

Оценивая химиотерапевтические возможности при метастатической меланоме, можно сказать, что больших успехов в лечении данного заболевания не достигнуто. Тем не менее нельзя забывать о наблюдаемых продолжительных ремиссиях у многих пациентов.

*Н. А. Лесная<sup>1</sup>, Е. М. Трещалина<sup>1</sup>, В. И. Романенко<sup>1</sup>,  
А. А. Кладиев<sup>2</sup>*

### ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМБИНАЦИИ ПРОСПИДИНА С АНТИМЕТАБОЛИТАМИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

<sup>1</sup>ГУРОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН, Москва

<sup>2</sup>Биотехнологическая компания ТНК, Москва

**Введение.** Антифолевый и пиримидиновый антиметаболиты метотрексат (Мtx) и 5-фторурацил (5-FU) широко используют в схемах

комбинированной химиотерапии (ХТ) в сочетании с препаратами алкилирующего механизма действия. Один из относительно низко-токсичных алкилирующих препаратов проспидин (Pr) мало изучен при комбинированной ХТ с антиметаболитами.

**Цель исследования.** Экспериментальное изучение эффективности 2 комбинаций на основе Mtx и 5-FU с Pr.

**Материалы и методы.** Использованы мыши-самцы с эпидермоидной карциномой легкого Льюиса (LLC) и мыши-самки СВА с раком шейки матки (РШМ-5). Лечение LLC начинали через 48 ч., а РШМ-5 – через 72 ч. после подкожной трансплантации опухолей. Препараты вводили внутривенно в оптимальных схемах: Pr вводили первым ежедневно на 2–6-й дни в разовой дозе 150 мг/кг, 5-FU и Mtx на 2-й и 6-й дни в разовых дозах 50 мг/кг и 10 мг/кг соответственно. Терапевтический эффект оценивали по стандартным общепринятым критериям ТРО % и УПЖ %, о переносимости судили по состоянию и поведению мышей, а также по результатам аутопсии павших животных.

**Результаты.** На мышках с LLC показано, что все виды монотерапии и комбинация 5-FU и Pr слабо ингибировали рост опухоли – ТРО<sub>max</sub>=56–77 %. Эффекты достоверны по отношению к нелеченному контролю ( $p < 0,05$ ), различия между группами недостоверны. Однако отсроченный ингибирующий эффект в группе комбинированного лечения был достоверно выше, чем в группе 5-FU: ТРО=73 % против 32 % ( $p < 0,05$ ), в сравнении с группой Pr выигрыша нет. В группах с монотерапией не получено достоверного УПЖ, в группе 5-FU + Pr достигнуто достоверное увеличение продолжительности жизни УПЖ=50% ( $p < 0,05$ ). На мышках с РШМ-5 показано, что Mtx и Pr в монорежиме практически не действовали на рост опухоли, ТРО<sub>max</sub>=0–39 %, комбинация Mtx + Pr привела к ТРО<sub>max</sub>=78 %. Эффект достоверен по отношению к нелеченному контролю и к группе Pr ( $p < 0,05$ ). Достоверных различий по УПЖ при всех видах лечения не отмечали.

**Выводы.** Эффект комбинации 5-FU + Pr можно оценить как потенцирующий по продолжительности жизни мышей с перевиваемой эпидермоидной карциномой легкого LLC. При комбинации Mtx + Pr на раке шейки матки РШМ-5 терапевтического выигрыша нет.

*Н. А. Лесная<sup>1</sup>, Е. М. Трецалина<sup>1</sup>, В. И. Романенко<sup>1</sup>, А. А. Кладиев<sup>2</sup>*

### ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМБИНАЦИИ ПРОСПИДИН+ДАКАРБАЗИН НА ПЕРЕВИВАЕМОЙ МЕЛАНОМЕ

<sup>1</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

<sup>2</sup>Биотехнологическая компания ТНК, Москва

**Введение.** Для лечения диссеминированной меланомы показаны 2 цитостатика алкилирующего механизма действия дакарбазин (ДТТС) и проспидин (Pr). Обычно алкилаторы не комбинируются из-за усиления токсического эффекта, в основном гематотоксичности. Pr не угнетает кроветворения и является потенциальным комбинантом для алкилирующих препаратов.

**Цель исследования.** Изучение противоопухолевой эффективности комбинации Pr + ДТТС при лечении перевиваемой меланомы.

**Материалы и методы.** Использованы мыши-самцы BDF<sub>1</sub> с подкожно перевиваемой меланомой В16. Лечение начинали через 48 ч после трансплантации, препараты вводили внутривенно одновременно последовательно, начиная с Pr. Схема применения: ежедневно 3-кратно в дозах, близких к максимально переносимым, разовая доза Pr 250 мг/кг (суммарная доза 750 мг/кг), разовая доза ДТТС 200 мг/кг (суммарная доза 600 мг/кг). Эффективность лечения оценивали по стандартным общепринятым критериям ТРО % и УПЖ %. О переносимости судили по состоянию и поведению мышей, а также по результатам аутопсии внутренних органов павших животных.

**Результаты.** Эффективность лечения составила: для Pr ТРО<sub>max</sub>=64 %, для ДТТС ТРО<sub>max</sub>=95 %, для комбинации Pr + ДТТС ТРО=100 %, различия с группами монотерапии достоверны ( $p < 0,05$ ). Длительность противоопухолевого эффекта также была максимальной в группе комбинированного лечения. На 21-е сут достоверный ингибирующий эффект получен только при комбинации Pr + ДТТС (ТРО=93 %), в то время, как эффективность препаратов в монотерапии составила 57 и 8 % соответственно. Продолжительность жизни мышей при этом была: для ДТТС УПЖ=34 %, для Pr УПЖ=86 %, в

комбинации Pr + ДТТС УПЖ=120 %, достоверных различий нет ( $p > 0,05$ ). Отсутствие достоверных различий по УПЖ может быть следствием сочетания 2 причин гибели мышей при В16: от первичной опухоли и от метастазов в легкие. Переносимость всех видов лечения была удовлетворительной, гибели от токсичности ни в одной группе не отмечали, состояние внутренних органов – без патологии.

**Выводы.** Комбинация проспидин + дакарбазин в оптимальных терапевтических дозах высокоэффективна при лечении перевиваемой меланомы В16 по ингибированию подкожных опухолевых поражений (ПРО). Эффект комбинации по этому параметру может быть оценен как потенцирующий. Для уточнения причины отсутствия достоверности различий по УПЖ целесообразно выполнить опыты с удалением первичного опухолевого узла.

*Т. Д. Луцкая, А. К. Голенков, Т. А. Митина, Ю. Б. Черных, И. В. Буравцова, Г. А. Дудина, Е. Ф. Клинушкина*

### СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ CD20<sup>+</sup>-ЛИМФОМ ПРОГРАММАМИ РИТУКСИМАБ И R-СНОР

*Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского, Москва*

**Цель исследования.** Оценка сравнительной эффективности лечения рецидивных и резистентных больных с В-клеточными CD20<sup>+</sup>-лимфомами ритуксимабом в режимах монотерапии и по протоколу R-СНОР-21.

**Материалы и методы.** Под наблюдением находились 24 пациента в возрасте от 46 до 81 года, из них 12 мужчин и 12 женщин. С рецидивом заболевания – 13 пациентов, с резистентной формой лимфомы – 11. По результатам иммуногистохимического исследования у всех больных установлен В-клеточный CD20<sup>+</sup> фенотип опухоли. По данным гистологического исследования у 6 больных диагностирована крупноклеточная лимфома, у 9 – лимфома из малых лимфоцитов, у 4 – из клеток мантийной зоны, у 1 – из клеток маргинальной зоны, фолликулярная – у 4 пациентов. У резистентных больных предлеченность в среднем составила 6 курсов химиотерапии (от 4 до 15), время наблюдения в среднем 12 мес (от 3 до 24). У рецидивных больных безрецидивное течение заболевания после индукционной химиотерапии составило в среднем 15 мес (от 9 до 27). По протоколу R-СНОР пролечены 18 больных, из них 9 резистентных и 9 рецидивных, в среднем проведены 5 курсов (от 3 до 6). Лечение ритуксимабом в режиме монотерапии (375 мг/м<sup>2</sup> 1 раз в нед – 4 введения) проведено 6 больным, из них 4 рецидивных и 2 резистентных. Эффективность лечения оценивалась согласно критериям (International Working Group to Standardize Response Criteria in NHL, 1999).

**Результаты.** Проведенное исследование в группе пациентов, получивших монотерапию ритуксимабом, показало, что полная ремиссия (ПР) достигнута у 4 больных с рецидивом заболевания, частичная (ЧР) наблюдалась у 1 пациента, резистентного к предыдущей терапии, прогрессирование заболевания – у 1 пациента, резистентного к предыдущей терапии. В группе больных, получивших лечение R-СНОР: ПР – 6 пациентов, резистентных к ранее проводимому лечению, ЧР – 12, из них 5 – резистентных и 7 рецидивных больных.

**Выводы.** Таким образом, сравнительное изучение эффективности программ Ритуксимаб и R-СНОР у резистентных и рецидивных больных с CD20<sup>+</sup>-лимфомой показало более высокую эффективность протокола R-СНОР.

### И. А. Медяник, И. В. Мухина, А. В. Дворников, Н. Н. Жемарина, Н. Н. Проданец, Л. Г. Седова, Л. М. Левина, Н. А. Гладкова, Д. Н. Никитин, Д. В. Усачев

### ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ ТЕРАФТАЛА ПРИ ИНТРАКАРОТИДНОМ ВВЕДЕНИИ

*Нижегородский межобластной нейрохирургический центр  
Нижегородская государственная медицинская академия*

**Задачи исследования.** Особенности нейроонкологии, в отличие от общей онкологии, заключаются в том, что средняя продолжительность жизни больных злокачественными опухолями головного мозга (ЗОГМ) составляет 1 год при глиобластомах и 2 года при анапластических астироцитомах. ЗОГМ нередко располагаются рядом или инфильтрируют жизненно и функционально значимые участки головного мозга. Считая одним из возможных перспективных направлений

терапии ЗОГМ возможность использования бинарных противоопухолевых каталитических систем, мы изучили острую токсичность терафтала при интракаротидном введении.

**Материалы и методы.** Исследование проводилось на 60 беспородных крысах со средним весом 270 г, разделенных на 2 группы по половому признаку. В каждой группе исследовано 5 подгрупп с введением терафтала в дозе 1; 15; 30; 45; 60 мг/кг. Введение осуществлялось в правую сонную артерию животным, находящимся под нембуталовым (этаминал натрия) наркозом в дозе 25 мг/кг с последующей ее перевязкой и наблюдением за животными до 30 дней.

**Результаты.** Выявлено, что LD<sub>50</sub> терафтала для самцов при интракаротидном введении составляет 42,5±3,84 мг/кг; для самок – 37,5±3,77 мг/кг. При этом отмечено, что терафтал усиливает действие наркоза у самок. Это вызвало необходимость снижения дозы нембутала до 40 %. Важно отметить, что при интракаротидном введении происходит окрашивание кожи и слизистых, снабжаемых кровью с бассейна сонной артерии на стороне введения. В то же время накопления препарата в ткани мозга выявлено не было.

**Выводы.** Терафтал не проникает через сохраненный гематоэнцефалический барьер. Вместе с тем в настоящее время существуют способы разрушения гематоэнцефалического барьера. Это не исключает возможность использования терафтала в комплексной терапии ЗОГМ. Экспериментальные исследования, направленные на изучение возможности применения терафтала в нейроонкологии, продолжаются.

*Т. А. Митина, А. К. Голенков, Т. Д. Луцкая, Е. В. Трифонова, Ю. Б. Черных, Л. Л. Высоцкая, А. В. Кедров*

### КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВЕЛКЕЙДА У РЕФРАКТЕРНЫХ И РЕЦИДИВНЫХ БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

*Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского, Москва*

**Введение.** Эффективное лечение резистентных и рецидивирующих форм множественной миеломы – актуальная проблема современной гематологии.

**Материалы и методы.** Нами наблюдались 37 пациентов с рецидивными и резистентными формами множественной миеломы, получающих лечение велкейдом в режиме монотерапии из расчета 1,3 мг/м<sup>2</sup> в/в струйно в 1-й, 4-й, 8-й и 11-й дни, межкурсовой промежуток составляет 10 дней. Из этой группы больных 12 прошли 6 курсов терапии велкейдом, 5 курсов получили 2 человека, 4 курса – 7, 3 курса – 5, 2 курса – 6, 5 пациентов прошли только 1 курс лечения велкейдом. Всем пациентам проводилось иммунохимическое исследование сыворотки крови и мочи для определения качественного и количественного рIg, определение плазмозитоза в костном мозге. Оценка эффективности монотерапии велкейдом проводилась согласно критериям ЕВМТ перед 1-м курсом и после 2-го и 6-го курсов лечения. В группе пациентов, получивших 6 курсов терапии велкейдом (12 человек), предлеченность была в среднем 15,5 мес (мин. 2 мес, макс. 54 мес), в среднем каждый больной получил 6 курсов ПХТ (М-2, МП, ЦСВП, ЛТ).

**Результаты.** У 9 человек определен рIg Gκ, у 1 – Gλ, у 1 – Ак, и Бенс-Джонс κ был у 1 пациента. В среднем уменьшение уровня рIg в этой группе составило 55,9 % (мин. 0 %, макс. 100 %). Полный ответ по М-белку был получен в 16,6 % (2 пациента), частичный ответ наблюдался в 41,6 % (5 пациентов), минимальный имели 33,3 % (4 пациента), не было ответа у 1 больного (8,3 %). Анализ эффективности монотерапии велкейдом был проведен в промежуточной группе пациентов, прошедших 3 курса лечения. У 8 больных был определен тип рIg: Gκ – 4, Gλ – 2, Бенс-Джонс κ – 1, у 1 пациента тип рIg не был определен. Предлеченность этих больных в среднем была 21,1 месяца и составила в среднем 9 курсов ПХТ (М-2, МП, ЦСВП, ВАД). После 3 курсов лечения велкейдом снижение уровня патологического Ig в среднем составило 25 %. Полный ответ был лишь у 1 пациента (12,5 %), частичный ответ получен у 1 (12,5 %), минимальный ответ у 4 (50 %), стабилизация заболевания отмечена у 2 больных (25 %).

**Выводы.** Применение велкейда у 20 резистентных больных с множественной миеломой было эффективным в 70 % наблюдений, включая 15 % полных и 55 % частичных ответов.

### ТОКСИЧНОСТЬ «АСКОРА» ПРИ ПРИМЕНЕНИИ СОБАКАМ

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

**Введение.** Противоопухолевая бинарная каталитическая система (БКС) «Оксикобаламин + Аскорбиновая кислота» под названием «АСКОР» создана в ФГУП «ГНЦ «НИОПИК».

**Цель исследования.** Доклиническое изучение токсичности бинарной каталитической системы «Оксикобаламин + Аскорбиновая кислота» («АСКОР») при применении собакам для прогнозирования побочных и токсических эффектов у человека при клиническом применении.

**Материалы и методы.** Исследования были проведены на 23 собаках породы «английский бигль», самках и самцах. Оксикобаламин (ОК) в лиофилизированной лекарственной форме (по 0,5 г во флаконе) растворяли в воде для инъекций и вводили внутривенно животным в 2,5%-ной концентрации однократно и многократно ежедневно в течение 15 дней. Аскорбиновую кислоту применяли внутривенно в фиксированном временном интервале (1 ч после ОК) и в фиксированном весовом соотношении 1:1,27 (по молярному соотношению 1:10). В качестве препарата сравнения использовали один ОК в тех же дозах, что и в БКС. Оценивали количественную токсичность БКС и ее влияние на морфо-функциональное состояние органов и тканей собак по требованиям ФК МЗ РФ.

**Результаты.** Определены уровни токсических доз БКС «АСКОР» (по ОК) при однократном применении: НТД (низкая токсическая доза) = 20 мг/кг, ВТД (МПД) (высокая токсическая доза) = 150 мг/кг, и при многократном применении (суммарные дозы): ВНТД (высокая нетоксическая доза) = 150 мг/кг и НТД = 600 мг/кг. Влияние БКС «АСКОР» в ВТД и НТД на периферическую кровь характеризуется снижением числа эритроцитов в 1,5–2 раза на ранних сроках, увеличением СОЭ в 7–25 раз и влиянием на число тромбоцитов (на ранних сроках – тромбоцитопения, в отдаленные сроки – увеличение числа тромбоцитов в 3 раза). Установлено, что гематологическая токсичность – лимитирующий вид токсичности БКС. При применении БКС и одного ОК в ВТД и НТД отмечено быстропроходящее повреждающее действие на печень, которое проявлялось в увеличении активности сывороточных ферментов АЛТ, АСТ в 2,5–3 раза и уменьшении содержания мочевины в 3 раза. При введении животным ОК и БКС «АСКОР» во всех изученных дозах наблюдалось проходящее в течение 24 ч окрашивание слизистых оболочек и кожи в розовый цвет, интенсивность которого зависела от величины примененной дозы. Морфо-функциональные исследования показали, что сферами избирательной токсичности каталитической системы «АСКОР» являются печень, почки, эритроциты, тромбоциты, сердечно-сосудистая система, кожа и щитовидная железа. При многократном применении БКС «АСКОР» в ВНТД морфо-функциональных изменений в органах и тканях собак не отмечено.

При клиническом применении БКС в МПД у человека прогнозируется окрашивание кожных покровов и слизистых оболочек в розовый цвет, гематологическая и гепатотоксичность.

*Благодарим Правительство г. Москвы за финансовую поддержку исследования.*

*И. В. Озерская<sup>1</sup>, Д. А. Бодягин<sup>2</sup>, В. И. Романенко<sup>3</sup>, Е. М. Трещалина<sup>3</sup>*

### КОРРЕКЦИЯ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ НЕЙТРОПЕНИИ С ПОМОЩЬЮ ПРЕПАРАТОВ РАЗЛИЧНОГО МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ

*<sup>1</sup>ММА им. И. М. Сеченова, Москва*

*<sup>2</sup>НИИ по изысканию новых антибиотиков РАМН, Москва*

*<sup>3</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва*

**Введение.** Миелосупрессия, осложняющая проведение противоопухолевой химиотерапии, купируется в основном колониестимулирующими факторами, например, Г-КСФ (нейпоген). Для профилактики гематологической токсичности используются другие средства, среди которых различные иммуномодуляторы, беталейкин, витамины группы В и пр. В последние годы найден новый гематопротектор – индуктор дифференцировки гемопозитических клеток препарат дикарбамин (Dcr). Настоящее исследование посвящено изучению возмож-

ности улучшения показателей кровотечения путем последовательно-го применения Dcr и нейпогена.

**Цель исследования.** Изучение эффективности коррекции индуцированной циклофосфаном (ЦФ) лейко- и нейтропении комбинацией дикарбамин + нейпоген.

**Материалы и методы.** Использованы 45 золотистых сирийских хомяков-самцов, разделенных на группы (n=10). Одна группа получила только ЦФ 200 мг/кг, остальные – Dcr 4,5 мг/кг 7 дней, начиная за 3 дня до ЦФ; или нейпоген 34,5 мкг/кг 5 дней, начиная через 3 дня после ЦФ; или последовательно Dcr и на его фоне нейпоген. В ходе эксперимента определяли общее количество лейкоцитов и проводили анализ лейкоцитарной формулы, данные обрабатывали статистически.

**Результаты.** Показано, что Dcr достоверно увеличивал общее и абсолютное число лейкоцитов в 2,7 раза, но только на 3-е сут после ЦФ. Нейпоген достоверно увеличивал общее число лейкоцитов в 3,1 раза, а абсолютное число нейтрофилов >5 раз, но только на 7-е сут после ЦФ. Последовательное применение Dcr и на его фоне нейпогена приводило к достоверному увеличению общего числа лейкоцитов в 2,3 раза и абсолютного числа лейкоцитов в 2 раза уже на 3-е сут, причем на 7-е сут эти показатели были также достоверно выше, соответственно в 2,9 и 4,7 раза. Пролонгированный эффект гематокоррекции наблюдали на протяжении всего периода введения Dcr.

**Выводы.** Последовательное применение Dcr и нейпогена (Г-КСФ) на фоне введения Dcr способствует более раннему восстановлению кровотечения, депрессированного циклофосфаном.

*Л. А. Островская, Д. Б. Корман,*

*М. М. Фомина, Н. В. Блюхтерова*

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИН И ТАКСАНОВ

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

**Введение.** Задача работы состоит в экспериментальном изучении целесообразности сочетанного применения широко используемых в современной химиотерапии опухолей цитостатиков, относящихся к группам таксанов (таксотер, таксол) и нитрозоалкилмочевин (нитрозометилмочевина – НММ).

**Материалы и методы.** Исследования проведены на модели лейкоза P388 при однократном внутрибрюшинном введении препаратов в дозе 50 мг/кг в режимах моно- и полихимиотерапии. Проведена оценка эффективности совместного применения препаратов в зависимости от последовательности их введения (НММ + таксотер, НММ + таксол, таксотер + НММ, таксол + НММ) и интервала между инъекциями препаратов (в диапазоне 1–5 сут).

**Результаты.** Обнаружено, что эффективность комбинированного применения таксанов и нитрозомочевин определяется выбором препарата таксанового ряда для включения в комбинацию с НММ. Синергизм терапевтического действия наблюдается при совместном применении НММ только с таксотером, но не с таксолом. Потенцирование противоопухолевого эффекта комбинации НММ с таксотером не зависит от последовательности применения препаратов, но существенным образом изменяется в зависимости от длительности интервала между введениями препаратов, колеблясь в пределах от 50 до 130 % увеличения средней продолжительности жизни животных по сравнению с контролем.

Максимальный и равнозначный противоопухолевый эффект (130% увеличения средней продолжительности жизни животных по сравнению с контролем) наблюдается при следующих режимах применения препаратов: таксотер + НММ с интервалом между введениями 1 сут и НММ + таксотер с интервалом между инъекциями 5 сут.

**Выводы.** Обнаруженный эффект сочетанного применения НММ и таксотера превышает терапевтические возможности каждого из компонентов комбинации в отношении исследованной тест-системы и может рассматриваться как проявление терапевтического синергизма препаратов при совместном использовании.

### Э. Р. Переверзева<sup>1</sup>, И. Д. Трещалин<sup>1</sup>, С. Э. Гельперина<sup>2</sup> ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КАРДИОТОКСИЧНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ ДОКСОРУБИЦИНА, АССОЦИИРОВАННОГО С НАНОЧАСТИЦАМИ

<sup>1</sup>*ГУ НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе  
РАМН, Москва*

<sup>2</sup>*Институт молекулярной медицины, Москва*

**Задача исследования.** Сравнительное изучение кардиотоксических свойств лекарственных форм доксорубицина (Д), ассоциированного с полибутилцитаноакрилатными наночастицами (НЧ).

**Материалы и методы.** Исследование проведено на крысах-самцах линии Wistar массой 120–150 г. Лекарственные формы Д вводили в хвостовую вену трехкратно с интервалом 72 ч в разовой дозе (по Д) 1,5 мг/кг. Были использованы следующие лекарственные формы Д: 0,2%-ный водный раствор; 0,2%-ный раствор в 1%-ном полисорбате (ПС); 0,2%-ный водный раствор Д на НЧ; 0,2%-ный раствор Д на НЧ в 1%-ном растворе ПС; интактный контроль. На 15-е и 30-е сут после окончания курса снимали ЭКГ, половину животных умерщвляли, сердечную мышцу подвергали патоморфологическому исследованию.

**Результаты.** На 15-е сут у животных в группе Д произошло увеличение интервала QT. К 30-м сут в этой группе отмечено усиление эффекта и развитие тахикардии. На 30-е сут декомпенсация сердечной деятельности возникла также в группах Д + ПС и Д + НЧ. Применение Д + НЧ + ПС не приводило к увеличению частоты сердечных сокращений и интервала QT. При патоморфологическом исследовании на 15-е сут после курса Д в миокарде были найдены мелкие лимфоидные инфильтраты, очаги кардиомиопатии, отек отдельных мышечных волокон. К 30-м сут появлялись зоны отека миокарда, очаги вакуолизации и дезорганизации мышечных волокон, лимфоидные инфильтраты в области атрофии мышечных волокон. Такие же изменения возникали у крыс, получавших Д + ПС, Д + НЧ. В группе Д + НЧ + ПС на 30-е сут в сердечной мышце всех подопытных крыс количество и размеры очагов отека, вакуолизации и атрофии мышечных волокон были значительно меньше по сравнению с остальными группами. Лимфоидные инфильтраты отсутствовали.

**Выводы.** Применение доксорубицина в наносомальной лекарственной форме с полисорбатом 80 позволяет ослабить его кардиотоксичность.

*Н. М. Перетолчина, С. М. Киселев, Е. Б. Дородникова,*

*Д. В. Улезько, Н. С. Сапрыкина, А. М. Козлов*

### РУЛИД В НИЗКИХ ДОЗАХ ПОТЕНЦИИРУЕТ ПРОТИВООПУХОЛЕВУЮ И АНТИМЕТАСТАТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ЦИСПЛАТИНА В ОТНОШЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕЛАНОМЫ М3

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

**Введение.** Ранее нами показано, что применение антибиотика ряда макролидов – рулида в эффективной терапевтической дозе (25 мг/кг) в комбинации с цитостатиками приводит к потенцированию их противоопухолевого и антиметастатического действия в отношении опухолей разного гистогенеза. Однако применение антибиотиков в высоких дозах сопровождается появлением побочных эффектов, снижающих, а зачастую нивелирующих их терапевтический эффект. Представлялось целесообразным изучить противоопухолевую и антиметастатическую активность рулида в диапазоне низких доз в качестве компонента комбинированной терапии.

**Цель исследования** Изучение противоопухолевой (п/о) и антиметастатической(а/м) активности рулида в диапазоне низких доз (0,1–1,0 мг/кг) в отношении меланомы М3 в режимах монотерапии и сочетанного применения с цисплатином.

**Материалы и методы.** Исследование выполнено на мышах DBA<sub>2</sub> с подкожно трансплантированной меланомой М3 (сублиния меланомы Клаудмана S-91). Рулид в режиме монотерапии вводили перорально 2 раза в сут в дозе 0,1 мг/кг в течение 10 дней, начиная со 2-х сут после трансплантации опухоли. При комбинированном лечении рулид применялся по вышеуказанной схеме, цисплатин вводили внутрибрюшинно, однократно в дозе 5 мг/кг на 2-е сут (схема I) или на 7-е сут (схема II) после перевивки опухоли. П/о эффект оценивали по торможению роста опухоли (ТРО, %), а/м эффект (ТРМ, %) – по массе легких, пораженных метастазами, при забое животных контрольных и терапевтических групп в конце опыта (на 28-е сут).

**Результаты.** Рулид в дозе 0,1 мг/кг в режиме монотерапии не проявил выраженного п/о действия (ТРО после окончания лечения –

20 %, на момент забоя – 11 %), однако ингибировал метастазирование опухоли на 39 %. При комбинированном применении рулида с цисплатином отмечено усиление п/о эффекта. Так, у животных, получавших комбинированное лечение по схеме I, на момент забоя ТРО составило 81 %, тогда как в группе животных, получавшей только цисплатин, – 25 %. Средняя масса легких с метастазами в группе животных, получавших комбинированное лечение, была на 40 % меньше аналогичного показателя в группе животных, леченных цисплатином. В случае отсроченного введения цисплатина (схема II) при комбинированной терапии также показано увеличение п/о активности. ТРО у животных, получавших комбинированное лечение по схеме II, на момент забоя составило 26 %, тогда как в группе животных, получавшей только цисплатин, эффект отсутствовал. При этом в группе комбинированного лечения отмечено выраженное торможение роста метастазов в легких (ТРМ=71 %) по сравнению с отсутствием аналогичного эффекта цисплатина в монотерапии (ТРМ=16 %).

**Выводы.** Рулид в низкой дозе 0,1 мг/кг (на 2 порядка меньшей максимально эффективной терапевтической при монотерапии) потенцирует противоопухолевое и антиметастатическое действие цисплатина при их сочетанном применении. Полученные экспериментальные данные характеризуют рулид как перспективный препарат для комбинированной терапии злокачественных новообразований.

*Ю. С. Сидоренко, Г. З. Сергостьяни,*

*Е. М. Франциянц, Н. В. Мусяенко*

### **ВЛИЯНИЕ ХИМИОТЕРАПИИ НА ГИДРОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ САРКОМЫ С-45 В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

*Научно-исследовательский онкологический институт,  
Ростов-на-Дону*

**Введение.** В настоящее время не вызывает сомнений роль ферментов лизосомального происхождения, в частности, катепсина Д, в процессах злокачественного роста. Активное сопротивление тканей и клеток неконтролируемой пролиферации в большой степени обеспечивается выработкой низкомолекулярных ингибиторов протеиназ. Нарушение же баланса в системе протеиназа-ингибитор отражает нарушение регуляции пролиферативных процессов, лежащее в основе туморогенеза.

Следует отметить, что особый интерес на современном этапе представляет изучение метаболических процессов, происходящих в перифокальной зоне опухоли во время ее развития, роста и регрессии.

В рамках данного исследования была поставлена задача изучить изменение активности катепсина Д и кислотостабильных ингибиторов протеиназ (КСИ), а также их соотношения (катепсин Д/КСИ) в перифокальной зоне саркомы С-45 (перевитой и выросшей в ткани легкого крыс) при экспериментальной химиотерапии.

**Материалы и методы.** В исследование включены 60 крыс с выросшей в легком перевитой саркомой С-45. Животные были распределены на 3 группы по виду экспериментального лечения: 1-я группа (контрольная) – химиотерапия не проводилась, 2-я группа – в ткань пораженного легкого вводили циклофосфан, разведенный на физиологическом растворе, и 3-я – циклофосфан вводили после его инкубации с кровью из пораженного опухолью легкого. Для сравнения использовали показатели ткани интактного легкого. В основных группах лечение начинали через 25 дней от момента перевивки опухоли. Кровь для инкубации с химиопрепаратом получали от 15 крыс с С-45, перевитой в ткань легкого аналогичным способом. Исследования в ткани перифокальной зоны проводили: в 1-й группе – через 25 дней после перевивки опухоли, во 2-й и 3-й группах – через 40 дней.

**Результаты.** Установлено, что до начала лечения (1-я группа) активность катепсина Д в перифокальной зоне опухоли была на 25,6 % ниже, чем в ткани интактного легкого. Активность КСИ при этом оказалась сниженной в 3 раза, в результате чего коэффициент катепсин Д/КСИ в 2,1 раза превышал таковой в интактной ткани. После экспериментальной химиотерапии во 2-й группе животных не отмечалось значимых изменений в активности протеолитических процессов. После введения циклофосфана, преинкубированного с кровью из легкого со злокачественной опухолью (3-я группа), произошла нормализация активности катепсина Д, а активность КСИ стала всего на 23,1 % ниже, чем в ткани интактного легкого.

*А. С. Сингин*

### **ПОПУЛЯЦИОННАЯ ФАРМАКОКИНЕТИКА МЕТОТРЕКСАТА. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ ДАННЫХ**

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

**Введение.** Высокодозная терапия метотрексатом (Мtx) ряда онкологических заболеваний (лейкозы, лимфомы, остеосаркома) не оптимизирована по подбору разовой дозы конкретному пациенту. Это связано с применением т.н. «средних» доз и отсутствием четких данных о факторе подбора дозы (Смах, АUC или их сочетание). В результате часто невозможно прогнозировать отсутствие эффекта и/или высокую токсичность. Существует возможность оптимизации индивидуального дозирования Мtx методом популяционной фармакокинетики.

**Цель исследования.** Разработка оптимальной модели фармакокинетики Мtx для оптимизации схемы лечения остеосаркомы.

**Материалы и методы.** Первичные параметры популяционной модели для каждого типа опухоли получены при использовании непараметрического метода максимального правдоподобия с применением программы NPEM, входящей в состав пакета программ USCPACK. Полученные первичные фармакокинетические параметры послужили источником для создания моделей с применением Байесовского моделирования. Полученные Байесовские модели далее были использованы для получения индивидуальных фармакокинетических параметров для каждого больного.

**Результаты.** На основании полученных результатов проведена предварительная оценка степени эффективности лечения в зависимости от максимальной концентрации метотрексата в сыворотке крови больных и величины экспозиционной дозы (АUC – area under curve – площадь под фармакокинетической кривой). Показано, что эффективность лечения однозначно обусловлена Смах в периферической камере (органы и ткани), которая должна быть не менее 4 мг/кг массы тела пациента.

**Выводы.** Разработана оптимальная Байесовская модель фармакокинетики Мtx, позволяющая определить основные фармакокинетические параметры для каждого больного, основанная на определении Смах > 4 мг/кг массы тела пациента.

*Т. А. Федотчева<sup>1</sup>, Л. Е. Голубовская<sup>2</sup>, О. Н. Минайлова<sup>2</sup>,  
З. С. Смирнова<sup>3</sup>, В. Н. Толкачев<sup>3</sup>, Т. А. Титова<sup>3</sup>,  
А. В. Семейкин<sup>1</sup>, Н. Л. Шимановский<sup>1</sup>, В. М. Ржевников<sup>2</sup>*

### **ИССЛЕДОВАНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ АНТИЭСТРОГЕНОЦИТОСТАТИКОВ И ДОКСОРУБИЦИНА НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ MCF-7/WT И РЕЗИСТЕНТНОЙ MCF-7/R ЛИНИЙ КЛЕТОК**

*<sup>1</sup>РГМУ, Москва*

*<sup>2</sup>ГУ ЭНЦ РАМН, Москва*

*<sup>3</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва*

**Введение.** В современной химиотерапии опухолей особый интерес представляет поиск соединений, снижающих мультилекарственную резистентность (МЛР) опухолевых клеток к цитостатическим средствам. В результате совместных исследований ГУ ЭНЦ РАМН и ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН создан новый класс соединений – антиэстрогеноцитостатиков, сочетающих антиэстрогенное действие с цитотоксическим. Одно из наиболее эффективных соединений этого класса Цитэстрол ацетат превосходит по силе, продолжительности и спектру действия такие известные противоопухолевые препараты, как антиэстроген Тамоксифен и стероидный цитостатик Эстрацит.

**Цель исследования.** Изучение цитотоксической и хемосенсибилизирующей активностей Цитэстрол ацетата и его 11-формильного аналога (РО-715).

**Материалы и методы.** Для оценки цитотоксической активности использовали МТТ-тест, а для процессов накопления опухолевыми клетками MCF-7/R, устойчивыми к доксорубину, использовали метод конфокальной лазерной микроскопии (LSM-5 Pascal).

**Результаты.** Наибольшей цитостатической активностью в отношении клеток MCF-7/WT обладал доксорубин, подавляя в максимальной концентрации (0,1 мМ) их жизнеспособность на 70,3 %, тогда как Цитэстрол ацетат и РО-715 соответственно на 45,1 % и 33,2 %.

Однако на линию MCF-7/R доксорубин (0,1 мМ) оказывал слабый эффект, подавляя их жизнеспособность на 30,1 %, в то время, как антиэстрогенцитостатики Цитэстрол ацетат и РО-715 проявляли более высокую цитотоксическую активность – 77,1 % и 48,1 %. Максимальный цитотоксический эффект оказывали комбинации антиэстрогенцитостатиков с доксорубином – 87,2 % и 88,1 % соответственно. Клетки MCF-7/R накапливают доксорубин в течение 20 мин, а в присутствии антиэстрогенцитостатиков – в течение 5 мин, что свидетельствует об их способности оказывать хемосенсибилизирующее действие.

**Выводы.** Представители ранее неизвестного класса антиэстрогенцитостатиков Цитэстрол ацетат и РО-715 проявляют в отношении резистентной к доксорубину линии опухолевых клеток MCF-7/R не только более высокую цитотоксическую активность, чем доксорубин, но и в комбинации с ним более активно подавляют пролиферацию этих клеток, а также увеличивают скорость накопления в них доксорубина.

*Т. Ю. Хричкова, В. Е. Гольдберг,  
В. В. Жданов, М. Г. Матяш*

### **ВЛИЯНИЕ КРОПАНОЛА НА ГРАНУЛОЦИТОПОЭЗ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В УСЛОВИЯХ ХИМИОТЕРАПИИ**

*ГУ НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН, Томск*

*ГУ НИИ онкологии ТНЦ СО РАМН, Томск*

В работе изучалась возможность коррекции кропанолом нарушений, возникающих в системе крови у больных раком молочной железы III–IV стадий при противоопухолевой химиотерапии.

В ходе работы были обследованы 40 больных раком молочной железы III–IV стадий, получавших полихимиотерапию по схеме CAF (циклофосфан, адриамицин, 5-фторурацил), из них 20 пациентов на-

ряду с указанным лечением между курсами принимали кропанол (отечественный препарат, полученный путем низкотемпературного обезжизнения и стерилизации крови алтайского марала) по 1 капсуле (0,05 г) 3 раза в день. Показатели периферической крови исследовали стандартными гематологическими методами. Клонирование клеток-предшественников грануломоноцитопоэза из неприлипающих кариоцитов костного мозга больных осуществляли в полуязвой питательной среде. По данным преднизолоновых проб оценивали состояние костномозгового резерва нейтрофильных гранулоцитов.

Проведенные исследования показали, что общее количество лейкоцитов (ОКЛ) у обследованных пациентов закономерно уменьшилось (на 48,2 % от исходного) уже после 1 курса химиотерапии. К началу 2 курса лечения ОКЛ в группе пациентов, принимавших кропанол, оказалось достоверно выше как исходного уровня, так и значений данного показателя в контрольной группе (на 1,7 Г/л).

Развитие лейкоцитоза у больных, получавших кропанол, было связано с активацией костномозгового гранулоцитопоэза. Об этом свидетельствует существенное увеличение содержания в кровяной ткани коммитированных предшественников грануломоноцитопоэза перед началом 2 курса химиотерапии у больных, получавших кропанол, а также результаты преднизолоновых проб, отражающие состояние костномозгового резерва нейтрофильных гранулоцитов. Так, перед началом 2 курса химиотерапии абсолютное содержание нейтрофилов в периферической крови больных, леченных по схеме CAF в комбинации с кропанолом, уже ко 2-му часу после введения гормона оказалось выше аналогичного показателя в контроле на 40,7 % ( $p < 0,05$ ). Указанные отличия оставались статистически достоверными и на 4-й – 6-й ч пробы. На основании полученных в настоящей работе данных можно утверждать, что кропанол обладает выраженной стимулирующей активностью в отношении подавленного гранулоцитопоэза у больных раком молочной железы III–IV стадий, получавших цитостатическое лечение.

# НОВЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Т. А. Абдылдаев<sup>1</sup>, С. Ш. Найзабекова<sup>1</sup>, Н. М. Жанбасинова<sup>2</sup>,  
С. М. Адекенов<sup>2</sup>

## ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ АРГЛАБИНА В ТЕРАПИИ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

<sup>1</sup>Национальный центр онкологии Кыргызской Республики, Бишкек

<sup>2</sup>Научно-производственный центр «Фитохимия» МОН РК,  
Караганда

**Цель исследования.** Изучение эффективности применения арглабина у больных раком шейки матки.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 6 больных с впервые установленным диагнозом рака шейки матки IIб–IIIб стадий, из них 4 больных со IIб стадией, 2 – с IIIб стадией заболевания. Диагноз гистологически верифицирован, у всех 6 больных установлен плоскоклеточный неороговевающий рак. Возраст больных колебался от 31 до 57 лет (медиана 56,3 года).

Неoadьювантная химиотерапия проводилась по клиническому протоколу №1, разработанному в отделении противоопухолевой лекарственной терапии Национального центра онкологии с включением 5 фторурацила 600 мг/м<sup>2</sup> в 1–5-й дни, карбоплатина 450 мг в/в капельно – 6-й день. Препарат арглабин вводился в дозе 5 мг/кг веса внутривенно после окончания курса химиотерапии с 1-го по 7-й день. Из 6 больных 2 курса комбинированной терапии с арглабином получили 3 больных, соответственно остальные 3 – по 1 курсу. Эффективность проведенного лечения оценивалась по стандартным критериям ВОЗ с использованием клинических и ультразвуковых методов.

**Результаты.** Полной регрессии опухоли не наблюдали ни у одной пациентки, частичная регрессия достигнута у 5, стабилизация процесса у 1 больной, прогрессирования заболевания не отмечалось. При повторной биопсии опухоли шейки матки после 2 курсов комбинированной терапии лечебный патоморфоз опухоли отмечен у 2 больных.

**Выводы.** Включение в неoadьювантную химиотерапию препарата арглабин при раке шейки матки положительно влияет на непосредственные результаты лечения, потенцирует противоопухолевый эффект проводимой лекарственной терапии.

Н. А. Азимова, С. К. Гойибова, Т. М. Фузаилова,  
З. М. Еникеева

## ИЗУЧЕНИЕ РАДИОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ДЭКОЦИНА НА ОПУХОЛЕВОМ ШТАММЕ АКАТОЛ ПРИ ОДНОКРАТНОМ ПРИМЕНЕНИИ

Республиканский онкологический научный центр МЗ РУз, Ташкент

**Задачи исследования.** Поиск новых радиосенсибилизаторов и, тем более, радиосенсибилизаторов с противоопухолевым действием остается актуальным для теоретической и клинической онкологии. Дэкоцин – новый противоопухолевый препарат, в настоящее время внедряемый в практику здравоохранения. Изучение его радиомодифицирующей активности на интактных мышцах показало, что он обладает способностью увеличивать действие облучения и обладает ФИД 0,75. В задачи исследования входило изучение радиосенсибилизирующей активности Дэкоцина на животных с перевитым штаммом АКАТОЛ при однократном введении препарата за различное время до облучения.

**Материалы и методы.** Радиосенсибилизирующее действие Дэкоцина изучалось на животных с перевитыми штаммами АКАТОЛ через 10 сут после инокуляции опухолей. Дэкоцин вводили в дозе 48 мг/кг (доза, вызывающая 50% противоопухолевый эффект при 1-кратном применении препарата), затем через определенное время (через 15 мин, 1; 6; 16 и 24 ч) животных каждой группы облучали на аппарате «THERATRON» с мощностью 112 с Гр/мин, источник Со<sup>60</sup> в дозе равной 6 Гр, защищая животных свинцовыми пластинами со специальным отверстием. Животных забивали через 11 сут после окончания опыта, исследовали кровь и измеряли массу тела, опухоли и селезенки, исследовали иммунологический статус.

**Результаты.** Для установления оптимального времени введения препарата Дэкоцин перед облучением, препарат вводился в дозе 48 мг/кг за 15 мин, 1; 6; 16 и 24 ч до однократного облучения в дозе 6 Гр. Получен эффект торможения роста опухолей одного облучения – 52,1 %, за 15 мин – 77,98 %, за 1 ч – 61,01 %, за 6 ч – 57,76 %, за 16 – 90,25 % и за 24 ч 81,13 %. Изучение гематологических показателей показало не выраженное снижение гемоглобина во всех группах, но количество лейкоцитов, в зависимости от времени введения препарата до облучения было следующим: в контрольной группе опухоленосителей – 4267, в группе с одним облучением – 1717, в группе, получившей Дэкоцин, – 2545; в группах, получивший Дэкоцин за 15 мин до облучения – 600, за 1ч – 2105, за 16 ч – 992, за 24 ч – 2147.

**Выводы.** Изучение влияния Дэкоцина на рост опухоли АКАТОЛ совместно с однократным облучением показало, что оптимальным временем введения препарата перед облучением является 16 и 24 ч.

Н. А. Азимова, С. К. Гойибова, Т. М. Фузаилова,  
З. М. Еникеева

## ИЗУЧЕНИЕ РАДИОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ДЭКОЦИНА НА РАЗЛИЧНЫХ ОПУХОЛЯХ ПРИ МНОГОКРАТНОМ ПРИМЕНЕНИИ

Республиканский онкологический научный центр МЗ РУз, Ташкент

**Задачи исследования.** Изучение влияния Дэкоцина на рост опухоли АКАТОЛ совместно с 1-кратным облучением показало, что оптимальным временем введения препарата перед облучением являются 16 и 24 ч. В задачи исследования входило изучение радиосенсибилизирующей активности Дэкоцина на животных с перевитыми штаммами АКАТОЛ, АКАТОН и Меланома В16 при многократном применении.

**Материалы и методы.** Радиосенсибилизирующее действие Дэкоцина изучалось на животных с перевитыми штаммами АКАТОН, АКАТОЛ и меланома В16 через 2 и 10 сут после инокуляции опухолей. Опытным группам вводили Дэкоцин в дозе 48/4=12 мг/кг, затем через 16 ч животных облучали на аппарате «THERATRON» мощностью 112 с Гр/мин, источник Со<sup>60</sup> в дозе, равной 6 Гр, ежедневная доза, разбитая на 4 дня, – 1,5 Гр, защищая животных свинцовыми пластинами со специальным отверстием. Животных забивали не ранее, чем через 7 сут после окончания опыта, исследовали кровь и измеряли массу тела, опухоли и селезенки, исследовали иммунологический статус.

**Результаты.** Опухоли в зависимости от их вида по-разному реагируют на одну и ту же дозу облучения (% ТРО на АКАТОНе – 52,0 %, АКАТОЛе – 56,45 % и Меланоме – 73,8%), и препарата, однако сочетание препаратов с облучением дает более выраженный эффект торможения роста (80 % – АКАТОН, 80–96 % – АКАТОЛ и 96–99 % – Меланома). Этот эффект вызван, по-видимому, способностью препарата накапливать клетки в фазе M+G2, что способствует дальнейшему повреждению их облучением.

**Выводы.** Изучение воздействия Дэкоцина совместно с облучением при 4-кратном введении показало, что препарат достаточно интенсивно увеличивает действие облучения у всех исследованных опухолей.

## Д. А. Алиева, Л. И. Миркамалова, З. М. Еникеева ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА К-48

Республиканский онкологический научный центр МЗ РУз, Ташкент

**Задачи исследования.** Изучение биологических свойств новых производных колхицина и колхамин, обладающих выраженной активностью и малой токсичностью, показало, что после проведенной терапии при внутрибрюшинном и пероральном применении некоторые из них увеличивали количество АОК. Нами это связано с их спо-

способностью к стимуляции КОЕс. Задачей исследования стало изучение иммуномодулирующей активности одного из них – К-48 (ЛД<sub>50</sub> 1440(в/бр), 9600(*per os*) мг/кг) после внутрибрюшинного (100 и 1 мг/кг) и перорального (500 и 1 мг/кг) введения животным-опухоленосителям с перевивным штаммом АКАТОЛ.

**Материалы и методы.** Введение препарата начато через 48 ч после перевивки опухоли АКАТОЛ, 10 введений. В системе *in vivo* были изучены показатели иммунного статуса в циркулирующей крови животных в день забоя (на 8-й день после последней инъекции) согласно методическим рекомендациям Института иммунологии РФ. Также изучалась фагоцитарная активность нейтрофилов по способности их фагоцитировать нейтральные частицы латекса. С помощью реакции торможения миграции лимфоцитов (РТМЛ) по микрокапиллярам (Л. И. Миркамалова, А. В. Маджидов, Р. М. Рузыбакиев и др., 1999) определяли спонтанную миграцию лейкоцитов периферической крови (СМ ПК), активность спонтанных цитокинов (СЦ), сФУМ и сФСМ, активность Т-лимфоцитов.

**Результаты.** После воздействия препарата К-48 (в/бр, 100 мг/кг, ТРО 96,2 %) выявлено его защитное действие на снижение регуляторных CD4 (Т-хелперы) и нарастание CD8 (Т-супрессоры), что обуславливает нормализацию показателей иммунорегуляторного индекса (ИРИ) до 1,42, которая ведет к усилению противоопухолевой защиты организма. Также отмечено повышение активности естественных факторов защиты организма. Введенный перорально в дозе 500 мг/кг К-48 способствует достоверному увеличению общих лимфоцитов, но снижению процента CD3. К-48 в дозе 1 мг/кг (*per os*, ТРО 44,7 %) способствует увеличению количества общих ИКК, субпопуляции CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>-клеток, а также нормализации соотношения CD4/CD8 (ИРИ=1,71) с повышением количества CD16<sup>+</sup>, ФАН и СМЛ ПК, осуществляющих 1-ю линию противоопухолевой защиты; кроме того, повышается функциональная активность Т-лимфоцитов.

**Вывод.** Исследования К-48 показали его положительное воздействие на уровень и соотношение параметров иммунного статуса после проведенного лечения, при этом степень и направленность их зависит от дозы и способа введения препарата.

С. А. Беляев<sup>1</sup>, П. М. Бычковский<sup>1</sup>, Т. Л. Юркович<sup>1</sup>,  
Ф. Н. Капуцкий<sup>1</sup>, А. А. Кладиев<sup>2</sup>

### ПРОЛОНГИРОВАННАЯ ЛЕКАРСТВЕННАЯ ФОРМА ПРОСПИДИНА

<sup>1</sup>НИИ физико-химических проблем Белгосуниверситета, Беларусь,  
Минск

<sup>2</sup>ООО Биотехнологическая компания ТНК, Москва

При лечении онкологических больных хирургические методы сочетают с лучевой и лекарственной терапией. В последние годы синтезировано множество противоопухолевых лекарственных препаратов, благодаря которым появилась возможность повысить эффективность лечения отдельных видов онкологических заболеваний, значительно продлить жизнь больных или даже обеспечить их полное выздоровление. Одним из таких препаратов является проспидин.

Согласно литературным источникам, он имеет малую токсичность, хорошо переносится больными, не действует угнетающе на кроветворение и, кроме того, имеет большую терапевтическую широту. Поэтому представляется целесообразным изучить возможность создания полимерной лекарственной формы пролонгированного действия монокарбоксилцеллюлоза (МКЦ)-проспидин. В связи с этим была изучена природа сорбционного взаимодействия проспидин-МКЦ.

Установлено, что процесс сорбции проспидина МКЦ из водных и водноорганических растворов описывается аналогом уравнения Лэнгмюра. Были рассчитаны константы сорбционного равновесия, предельной сорбционной емкости, коэффициенты межфазного равновесия и значения свободной энергии сорбции. Показано, что основной тип взаимодействия, который реализуется в системе МКЦ-проспидин, – ионный обмен, что подтверждается данными ИК-спектров и уменьшением значений pH равновесных растворов по сравнению с исходными.

Для первичной оценки возможности пролонгации действия проспидина, иммобилизованного МКЦ, был изучен релиз проспидина из фазы МКЦ в физиологический раствор при температуре (310±1) К в статических условиях. Показано, что процесс высвобождения состоит

из 2 стадий: быстро протекающей начальной и медленно протекающей конечной, причем 1-я плавно переходит во 2-ю. Переход от начальной стадии в конечную продолжается приблизительно 200 мин и завершается высвобождением около 20 % насыщающего количества проспидина. 2-я стадия протекает медленно и практически с постоянной скоростью до полной биодеградации полимера, что обеспечивает постоянную «подпитку» проспидином пораженного органа и создает эффект пролонгированного действия.

Л. М. Борисова<sup>1</sup>, И. Ю. Кубасова<sup>1</sup>, М. П. Киселева<sup>1</sup>,  
З. С. Смирнова<sup>1</sup>, Н. А. Санина<sup>2</sup>, С. М. Алдошин<sup>2</sup>, Т. Н. Руднева<sup>2</sup>  
**ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ  
ТЕТРАНITРОЗИЛЬНОГО КОМПЛЕКСА  
ЖЕЛЕЗА С ИМИДАЗОЛ-2-ИЛОМ**

<sup>1</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

<sup>2</sup>Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка

**Введение.** Нитрозильные комплексы железа с серосодержащими гетероциклическими лигандами являются синтетическими моделями нитрозильных биядерных [2Fe-2S] и моноядерных [1Fe-2S] протеинов, образующихся *in vivo* при действии эндогенного NO на активные центры железо-серных белков. Синтез, изучение физико-химических свойств и биологической активности этих соединений – аналогов биорезервуаров монооксида азота (NO) в клетках живых организмов важны как с точки зрения изучения механизмов действия NO, так и для создания нового поколения доноров NO с целью химиотерапии опухолей. Монооксид азота влияет на апоптоз опухолевых клеток, активность гена *p53*, новообразование сосудов и другие мишени. Эти свойства NO послужили основанием для изучения противоопухолевой активности соединений, генерирующих оксид азота.

**Цель исследования.** Оценить противоопухолевую активность биядерного тетранитрозильного комплекса железа, содержащего гетероциклический лиганд: 2-меркапто-имидазол – структурный аналог природных меркаптогистидинов.

**Материалы и методы.** Противоопухолевую активность соединения изучали на перевиваемых опухолях мышей: лимфолейкозе Р-388, аденокарциноме молочной железы Са-755 и меланоме В-16. Критериями эффективности служили: торможение роста опухоли (ТРО, %) и увеличение продолжительности жизни опытных животных по сравнению с контрольными (УПЖ, %). Соединение вводили внутрибрюшинно в течение 5 дней в широком диапазоне доз.

**Результаты.** Показано, что соединение проявляет статистически значимый противоопухолевый эффект в дозах 10; 50 и 75 мг/кг на Са-755 (ТРО = 53 %, 55 % и 69 % соответственно) и меланоме В16 в тех же дозах (ТРО = 75 %, 49 % и 65 % соответственно). В то же время на меланоме В16 не выявлено прямой зависимости противоопухолевого эффекта соединения от дозы.

**Выводы.** Учитывая, что тетранитрозильный комплекс железа с имидазол-2-илом проявил статистически значимую противоопухолевую активность на Са-755 и меланоме В16, целесообразно продолжить изучение его терапевтической эффективности в отношении других перевиваемых опухолей.

Н. В. Бочкова, К. Ж. Мусулманбеков, В. Б. Сирота,  
Е. В. Кострова, Н. Л. Целикова

### ПРИМЕНЕНИЕ АРГЛАБИНА КАК РАДИОМОДИФИКАТОРА ПРИ РАКЕ ЛЕГКОГО

Карагандинская государственная медицинская академия  
КГКП «Карагандинский областной онкологический центр»,  
Казахстан, Караганда

**Задачи исследования.** Определить возможность применения арглабина при лучевой терапии (ЛТ) динамическим фракционированием дозы у больных раком легкого (РЛ).

**Материалы и методы.** Проанализированы результаты лечения 24 больных РЛ. Средний возраст их составил 58,4 лет, со 2-й стадией опухолевого процесса – 2 больных, с 3-й – 22. У всех больных – плоскоклеточный рак разной степени ороговения. Все пациенты получали ЛТ динамическим фракционированием: первые 3 дня РОД – 4 Гр 1 раз в день. Далее метод мультифракционирования: РОД – 1,2 Гр 2 раза в день с интервалом 4,5 ч 9 дней. На 1-м этапе лечения доза составляет СОДфиз=33,6, СОДэв=36 Гр. Перед лучевым лечением за 40 мин до сеанса ежедневно вводили внутривенно 2%-ный раствор

арглабина из расчета 185 мг/м<sup>2</sup> 10 дней. Через 10–12 дней указанный курс повторяли. За 2 курса ЛТ к опухоли подводится СОДфиз=67,2 Гр, что эквивалентно СОД=70 Гр. Общее количество внутривенных введений арглабина – 20. Суммарная доза препарата варьирует от 5500 до 9000 мг. Непосредственный клинический эффект оценивали согласно рекомендациям ВОЗ.

**Результаты.** Из 22 больных РЛ, взятых на ЛТ с арглабином, полный курс получили только 10. Остальным 12 пациентам пришлось прекратить лечение из-за распада опухоли, выявления метастазов в легкое или кости, появления кровохарканья. В группе больных, получивших полный курс лечения, полный регресс опухоли был отмечен у 1 пациента, частичный – у 8, у 1 пациента отмечена стабилизация процесса. Таким образом, положительный клинический эффект наблюдали у 9 больных. Ни у одного больного не оказалось лейкопении. Средний объем опухоли до лечения составил 253,6±1,8 см<sup>3</sup>, после лечения – 78,6±1,0 см<sup>3</sup>. Необходимо отметить лучшую клиническую переносимость см<sup>3</sup> лучевого лечения при использовании арглабина. Со стабилизацией процесса живут 5 больных после лечения более 16 мес. Продолжающийся рост опухоли диагностировали у 2 пациентов через 4 и 12 мес, у 1 – через 1,5 мес наблюдали распад опухоли с кровотечением, у 1 пациента через 8 мес метастазы в противоположное легкое, 1 больной умер от прогрессирования через 5 мес.

**Выводы.** Возможно применение арглабина в монорежиме у больных РЛ с целью улучшения переносимости ЛТ. Данное исследование требует дальнейшего продолжения.

В. А. Братцев<sup>1</sup>, Р. А. Спрыжкова<sup>1</sup>, Е. Ю. Колдаева<sup>2</sup>,  
Е. Ю. Григорьева<sup>2</sup>, Дж. Х. Моррис<sup>3</sup>, Д. Ф. Гейнс<sup>4</sup>  
**СИНТЕЗ РОДАНДОДЕКАБОРАТА,  
Na<sub>2</sub>B<sub>12</sub>H<sub>11</sub>SCN, – НОВОГО ЭФФЕКТИВНОГО  
ПРЕПАРАТА  
ДЛЯ НЕЙТРОНОЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ**

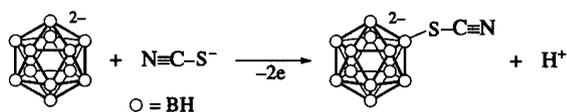
<sup>1</sup>ГНЦ ГНИИХТЭОС, Москва

<sup>2</sup>ГУ РОИЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

<sup>3</sup>Стратклайдский университет, Глазго, Великобритания

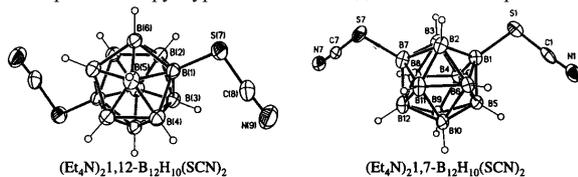
<sup>4</sup>Висконсинский университет, Мэдисон, США

Найдено, что клозо-додекаборат-анион (B<sub>12</sub>H<sub>12</sub><sup>2-</sup>) претерпевает легкую реакцию роданирования при комнатной температуре при действии роданида калия (KSCN) и обычных химических окислителей, таких, как H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> или K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, в среде разбавленной серной кислоты:



Получаемый родандодекаборат выделен в виде тетраэтиламмониевой, цезиевой и натриевой солей и водного раствора натриевой соли Na<sub>2</sub>B<sub>12</sub>H<sub>11</sub>SCN, испытан в биологических экспериментах на животных на безвредность и накопление в опухолях, которые показали в 2 раза меньшую токсичность Na<sub>2</sub>B<sub>12</sub>H<sub>11</sub>SCN и в 3 раза большую степень накопления в опухолях по сравнению с наилучшим известным препаратом BSH.

Реакция роданирования не останавливается на стадии монородандодекабората и при избытке роданид-иона и окислителя протекает далее с образованием 1,7- и 1,12-диродандодекабората. Оба изомера были выделены в виде их кристаллических тетраэтиламмониевых солей, и их строение было определено с помощью спектров <sup>11</sup>B ЯМР и рентгеноструктурного анализа выделенных монокристаллов:



По данным РОИЦ диродандодекаборат обладает большей токсичностью и меньшей степенью накопления в опухолях по сравнению с 1 и BSH и не может быть препаратом для НЗТ.

Родандодекаборат устойчив к действию большинства сильных расщепляющих реагентов. Единственной найденной возможностью была реакция B<sub>12</sub>H<sub>11</sub>SCN<sup>2-</sup> с натрием в жидком аммиаке, где наблюда-

лось полное восстановление SCN-группы с образованием B<sub>12</sub>H<sub>11</sub>SH<sup>2-</sup>, хотя и с малым выходом.

И. С. Буренин, Н. И. Полянская, З. В. Кузьмина  
**НОВЫЕ ПОДХОДЫ К КОМПЛЕКСНОЙ  
ЭНДОКРИНОТЕРАПИИ РАКА  
ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

ГУ РОИЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

**Введение.** В настоящее время консервативное лечение рака предстательной железы обеспечивают следующие направления: антигормоны, такие, как флутамид, аналоги гипоталамических рилизинг гормонов – супрефакт, золадекс, бузерелин, лейпролид, химио- и иммунотерапия. Большие надежды возлагаются на применение антиоксидантов. Их существует большое количество, но до сих пор не найден препарат, значительно повышающий противоопухолевый эффект гормонального и химиотерапевтического воздействия на опухоль.

**Задачи исследования.** Сравнительное изучение противоопухолевого действия такого антиоксиданта, как фуллерен-C<sub>60</sub> (новая аллотропная форма углерода), и антиоксидантов, синтезированных из мицелия грибов – миколикопина, ликопина, фитофлуина, фитоина.

**Материалы и методы.** Исследование выполнено на крысах линии АС1 с перевитой аденокарциномой предстательной железы, опухолью, адекватной клинке по морфологии и реактивности на гормональные воздействия, а также на мышцах линии С<sub>3</sub> Н с перевитым раком молочной железы. Крысам с перевитой аденокарциномой предстательной железы вводили путем принудительного кормления миколикопин и ликопин в дозе 2,5 мг/кг, еще одна группа крыс получала фуллерен в дозе 100 мкг/кг в виде питья. Мыши с перевитым раком молочной железы получали фитоин и фитофлуин тоже в дозе 2,5 мг/кг. Эффективность этой дозы была ранее определена в наших исследованиях.

**Результаты.** Установлено, что наиболее выраженным противоопухолевым действием обладает фуллерен и субстанция миколикопина. Торможение роста аденокарциномы предстательной железы составило в 1-м случае 75 %, во 2-м 70 %. Ликопин вызывал торможение роста опухоли в пределах 40–50 %. Не оказывали противоопухолевого действия на рак молочной железы фитоин и фитофлуин, хотя в литературе имеются данные о таком эффекте.

**Выводы.** Полученные результаты и противоопухолевое действие фуллерена и особенно миколикопина открывают новые возможности разработки схем лечения рака предстательной железы, используя не только известные схемы с применением анти- и аногормонов, но и создавая новые препараты. Весьма перспективно использование соединения, где будут представлены 2 активные молекулы: агонист лопидерина и антиоксидант нового поколения, «сшитых» в одном препарате. Такое соединение уже получено и будет изучаться.

П. М. Бычковский<sup>1</sup>, Т. Л. Юркинович<sup>1</sup>, Ф. Н. Капуцкий<sup>1</sup>,  
С. А. Беляев<sup>1</sup>, Д. А. Адамчик<sup>1</sup>, Е. А. Короткевич<sup>2</sup>,  
Э. А. Жаврид<sup>2</sup>, А. В. Ваккер<sup>2</sup>, А. Ф. Смянович<sup>3</sup>,  
Ю. Г. Шанько<sup>3</sup>

**ЦИСПЛАЦЕЛ – ЭФФЕКТИВНОЕ СРЕДСТВО  
ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ  
НОВООБРАЗОВАНИЙ ГОЛОВЫ И ШЕИ**

<sup>1</sup>НИИ физико-химических проблем Белгосуниверситета, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>НИИ онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова, Минск, Беларусь

<sup>3</sup>РНЦ неврологии и нейрохирургии МЗ РБ, Минск, Беларусь

Фармакологическое действие препарата обусловлено цитостатическим эффектом иммобилизованного на МКЦ цисплатина – одного из наиболее перспективных препаратов для лечения саркомы мягких тканей, меланомы, злокачественных опухолей головы и шеи и особенно нейроэпителиальных новообразований головного мозга. Однако проницаемость цисплатина через гематоэнцефалитический барьер незначительна, поэтому при внутривенном введении препарата его концентрация в ткани головного мозга не превышает 0,1 % общего количества, что абсолютно недостаточно для достижения противоопухолевого эффекта. Существующий метод стереотаксической инфузии раствора цисплатина в ложе удаленной опухоли также не дает

существенного эффекта из-за быстрой диффузии цитостатика в ликворную систему, что снижает его противоопухолевое воздействие и приводит к развитию побочных эффектов. Эта проблема была решена путем включения цисплатина в состав МКЦ, продукта модификации целлюлозы, гемостатика, который применяется практически во всех видах хирургических, гинекологических, травматологических и других операциях. В организме МКЦ разрушается с образованием безвредных, нетоксичных растворимых низкомолекулярных фракций.

Доинформационные испытания показали, что препарат Цисплацел не обладает выраженным нейротоксическим действием на интактную ткань головного мозга как в месте имплантации, так и на отдалении и полностью сохраняет цитостатические свойства исходного цисплатина. Клинические испытания препарата Цисплацел были проведены на 37 больных с низкодифференцированными глиомами головного мозга (pT<sub>2</sub>M<sub>0</sub>G<sub>3-4</sub> стадии опухоли). Они включали в себя хирургическое удаление опухоли в пределах неизменной мозговой ткани с имплантацией на стенки послеоперационной раны препарата Цисплацел с последующей лучевой терапией. Медиана выживаемости больных, которым была проведена локальная химиотерапия препаратом Цисплацел, составила 433 дня, что в 2 раза превышает этот показатель при стандартном комбинированном лечении (214 дней).

Полученные данные показывают эффективность применения препарата Цисплацел в лечении больных злокачественными новообразованиями головного мозга.

*И. В. Высочин, Н. А. Оборотова, А. М. Козлов*  
**ОТБОР ЛЕКАРСТВЕННОГО ВЕЩЕСТВА  
 ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ПРОЛОНГИРОВАННОЙ  
 СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ  
 ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО СРЕДСТВА  
 ДЛЯ ПРИЕМА ВНУТРЬ**

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

**Введение.** Проблема пролонгирования терапевтического действия лекарственного вещества (ЛВ) впервые поставлена в 30-е гг. XX столетия при создании рациональных лекарственных форм инсулина и пенициллина. Было необходимо в организме больного создать эффективно действующую концентрацию ЛВ и поддерживать ее на терапевтическом уровне без резких колебаний в течение нескольких часов, дней и даже месяцев. Однако существуют ряд ограничений в создании пролонгированных лекарственных форм (ЛФ) некоторых препаратов, которые вытекают в основном из свойств самих ЛВ. Разработка эффективных пролонгированных ЛФ противоопухолевых препаратов лимитируется проявлениями их токсичности или побочным действием, что связано с механизмом цитотоксического действия потенциальных соединений. Особенности и вариабельность побочных эффектов противоопухолевых ЛВ, их химическая лабильность и сложность фармакокинетических и фармакодинамических эффектов осложняют проблему и требуют обоснованных методических подходов к вопросу выбора потенциального лекарственного препарата для разработки его пролонгированной ЛФ.

**Цель исследования.** Выбрать критерии для отбора противоопухолевых лекарственных веществ, позволяющих разработать на их основе пероральную пролонгированную лекарственную форму.

**Материалы и методы.** В работе использован метод критериального отбора. Репрезентативность лекарственного вещества определялась в баллах: 1 соответствует критерию, 0 не соответствует. Сумма баллов для каждого вещества определяла его пригодность для последующего использования.

**Результаты.** Проанализировано более 50 препаратов (по международному непатентованному наименованию), имеющих твердую лекарственную форму (таблетка и капсула) и зарегистрированных в Регистре лекарственных средств России.

**Вывод.** Критериями отбора являлись: 1) период полувыведения вещества меньше 8 ч; 2) суточная доза не более 500–700 мг; 3) большой терапевтический индекс; 4) быстрое всасывание при приеме внутрь; 5) хорошая растворимость в воде; 6) всасывание путем пассивного транспорта; 7) длительный фармакологический эффект в течение курсового приема. В результате отобраны 5 следующих препаратов, соответствующих этим критериям: темозоломид, хлорамбуцил, прокарбазин, кальция фолинат, сарколизин.

*Р. О. Гагуа, Г. А. Тевзадзе, М. В. Заридзе*  
**КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ  
 ПРЕПАРАТА АРГЛАБИН В КОМБИНАЦИИ  
 С ПОЛИХИМИОТЕРАПИЕЙ  
 ПРИ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННОМ РАКЕ  
 МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

*Национальный центр онкологии им. А. Р. Гвамичава  
 МЗ Республики Грузия, Тбилиси*

**Введение.** Полихимиотерапия играет важную роль в лечении рака молочной железы. Исходя из этого, актуально усиление ее лечебного эффекта и снижение постхимиотерапевтической токсичности. В этом отношении интерес представляет оригинальный казахстанский препарат арглабин.

**Цель исследования.** 1. Изучение эффективности препарата арглабин в комбинации с неoadьювантной химиотерапией при местнораспространенном раке молочной железы. 2. Изучение способности арглабина нивелировать токсическое действие химиопрепаратов.

**Материалы и методы.** Клинические исследования проведены 53 больным с местнораспространенным раком молочной железы T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>; T<sub>4</sub>N<sub>0-3</sub>M<sub>0</sub> – III стадии, лечившимся в Национальном центре онкологии им. А. Р. Гвамичава МЗ Грузии (г. Тбилиси). Возраст больных колебался от 30 до 65 лет. Пациентки были разделены на 2 группы: 1-я (контрольная) группа – 25 пациенток, которым проводилась неoadьювантная химиотерапия по схеме CAF (цисплатин + адриабластин + 5-фторурацил); 2-я группа – 25 пациенток, которым проводилась неoadьювантная химиотерапия по схеме CAF+арглабин. Арглабин вводился внутривенно из расчета 5 мг/кг или 185 мг/м<sup>2</sup> ежедневно в течение 15 дней.

**Результаты.** По результатам проведенной клинической апробации наблюдалось улучшение состояния пациенток в группе, получавшей арглабин в процессе лечения. При этом не отмечалось постхимиотерапевтической гематологической и гастроэнтерологической токсичности.

*Л. Г. Деженкова<sup>1</sup>, О. Ю. Сусова<sup>2</sup>, В. А. Глазунова<sup>2</sup>,  
 А. Е. Щекотихин<sup>1</sup>, А. А. Штиль<sup>2</sup>, М. Н. Преображенская<sup>1</sup>*  
**НАФТОИНДОЛДИОНЫ – НОВЫЙ КЛАСС  
 ИНГИБИТОРОВ ТОПОИЗОМЕРАЗЫ I**

*<sup>1</sup>ГУ НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе  
 РАМН, Москва*

*<sup>2</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва*

**Введение.** Поиск ингибиторов топоизомеразы I – одно из современных направлений создания мишень-специфических противоопухолевых средств. Ранее нами были разработаны методы синтеза потенциальных ДНК-лигандов на основе нафто[2,3-*f*]индол-5,10-диона – аналога антрациклинонов, показана их высокая антипролиферативная активность и установлено, что некоторые производные этого класса вызывают гибель опухолевых клеток с различными механизмами резистентности. Поскольку связывание низкомолекулярных лигандов с ДНК может нарушать функцию ферментов, обеспечивающих оптимальную конформацию ДНК для матричных синтезов, представляется важным изучить способность производных нафто[2,3-*f*]индол-5,10-диона ингибировать активность топоизомеразы I.

**Цель исследования.** Поиск ингибиторов топоизомеразы I в ряду производных нафто[2,3-*f*]индол-5,10-диона.

**Материалы и методы.** Ингибирование активности топоизомеразы I определялась по способности новых соединений задерживать релаксацию сверхспирализованной ДНК топоизомеразой I. Топоизомеры разделяли электрофорезом в 1%-ном агарозном геле. Цитотоксичность соединений изучали в МТТ-тесте.

**Результаты.** Изучение ряда 4,11-дигидроксинафто[2,3-*f*]индол-5,10-дионов, содержащих в положении 3 фармакофорные группы, показало, что в цитотоксических концентрациях эти соединения ингибируют активность топоизомеразы I. Так, 3-аминоэтил- и 3-диметиламиноэтил-производные 4,11-дигидроксинафто[2,3-*f*]индол-5,10-диона в концентрациях 2–5 мкМ ингибируют релаксацию сверхспирализованной ДНК, в то время, как контрольный препарат камптотецин вызывал указанный эффект лишь в концентрациях > 10 мкМ.

**Выводы.** Полученные результаты показывают, что производные нафто[2,3-*f*]индол-5,10-диона способны ингибировать актив-

ность топоизомеразы I. Эта способность отличает производные нафто[2,3-*f*]индол-5,10-диона от антрациклиновых антибиотиков и обуславливает перспективность соединений исследуемого класса как противоопухолевых агентов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №06-03-32233\_а.

А. Н. Жабаяева<sup>1</sup>, Е. А. Осун<sup>1</sup>, Х. И. Итжанова<sup>1</sup>,

Б. А. Сагиндыкова<sup>2</sup>, С. М. Адекенов<sup>1</sup>

## РАЗРАБОТКА ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ АРГЛАБИНА В КАПСУЛАХ

<sup>1</sup>Научно-производственный центр «Фитохимия» МОН РК, Караганда

<sup>2</sup>Южно-Казахстанская государственная медицинская академия МЗ РК, Шымкент

**Введение.** Фармакологические исследования арглабина установили его иммуномодулирующее и противовоспалительные свойства, что определило, в свою очередь, задачу по разработке кислотоустойчивой лекарственной формы для перорального введения арглабина.

**Цель исследования.** Разработка технологии получения лекарственной формы арглабина в кишечнорастворимых капсулах.

**Материалы и методы.** Исходя из терапевтической дозы арглабина с иммуномодулирующим эффектом – 5 мг/кг и его суточной дозы в клинических условиях – 60 мг, кишечнорастворимые капсулы № 2 наполняли гранулами, полученными смешиванием измельченных и просеянных арглабина и вспомогательных веществ, увлажнением 5%-ным крахмальным клейстером, 2%-ным раствором натрия альгината, водой очищенной, продавливанием через сито № 30, высушиванием в сушильном шкафу при температуре 45–50 °С, вторичным просеиванием через сито № 20, опудриванием скользящими веществами: кальция стеаратом, аэросилом, тальком.

**Результаты.** С учетом фармакологических свойств арглабина нами разработаны модельные смеси, составы которых представлены в таблице.

### Составы модельных смесей капсул арглабина

Наименование ингредиентов	Количество ингредиентов модели на 1 капсулу, г		
	1	2	3
Арглабин	0,03	0,03	0,03
Лактоза	0,1147	0,1448	0,1207
Микрокристаллическая целлюлоза	0,0519	–	0,0303
Крахмал	0,0024	–	–
Поливинилпирролидон	–	0,017	–
Натрия альгинат	–	0,0042	–
Альгиновая кислота	–	–	0,017
Кальция стеарат	0,01	0,002	–
Аэросил	–	0,002	–
Тальк	–	–	0,002

Определены физико-химические свойства модельных смесей капсул арглабина.

Получены опытные партии арглабина в кишечнорастворимых капсулах для фармакологических исследований.

В. П. Жердев<sup>1</sup>, С. М. Адекенов<sup>2</sup>, А. К. Сариев<sup>1</sup>,  
Г. Б. Колыванов<sup>1</sup>, А. А. Литвин<sup>1</sup>

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ И БИОТРАНСФОРМАЦИИ АРГЛАБИНА

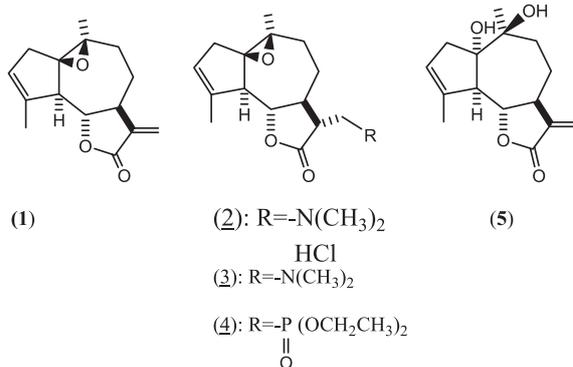
<sup>1</sup>ГУ НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, Москва

<sup>2</sup>Научно-производственный центр «Фитохимия» МОН РК, Караганда

**Введение.** Изучение механизма действия оригинального противоопухолевого препарата арглабин, а также результаты химической модификации молекулы природного сесквитерпенового лактона (1) – действующего вещества данного средства послужили предпосылкой для исследования в эксперименте его фармакокинетики и биотрансформации.

**Цель исследования.** Изучение фармакокинетики и биотрансформации оригинального противоопухолевого препарата арглабин с использованием его лекарственной формы – лиофилизированного гидрохлорида диметиламиноарглабина (2), природного арглабина (1), его диметиламинопроизводного (3), диэтилфосфоната арглабина (4) и диоксиарглабина (5).

**Материалы и методы.** Эксперименты выполнены согласно методическим указаниям по проведению доклинических исследований фармакокинетики фармакологических веществ и лекарственных средств. Исследование проведено на 190 белых крысах-самцах (масса тела 200±20 г). Методики экстракции из биоматериала и количественного анализа исследуемых веществ разработаны нами впервые.



**Результаты.** Разработаны высокочувствительные селективные методики определения арглабина нативного (1), диметиламиноарглабина (2), диэтилфосфоната арглабина (4) и диоксиарглабина (5) в биологических средах (плазма крови, гомогенат печени, моча) с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии. Установлено, что после однократного внутривенного введения лиофилизированного арглабина в плазме крови, гомогенатах печени и суточной моче крыс регистрируется диметиламиноарглабин (3) и арглабин нативный (1). Предполагаемые метаболиты арглабина – лиофилизированного (2) – диэтилфосфоната арглабина (4) и диоксиарглабина (5) в анализируемых образцах не обнаружены. Арглабин нативный (1) и диметиламиноарглабин (3) относятся к группе «короткоживущих» соединений, о чем свидетельствуют значения периодов полувыведения из организма животных. Для арглабина нативного (1) и диметиламиноарглабина (3) выявлена дозозависимая фармакокинетика.

Е. Н. Карева, И. С. Левина, Н. Д. Гаспарян, А. Е. Маняхина,  
О. С. Горенкова

## СИНТЕТИЧЕСКИЕ АНАЛОГИ ПРОГЕСТИНОВ (ПЕНТАРАНЫ) СЕЛЕКТИВНО СВЯЗЫВАЮТСЯ С РЕЦЕПТОРАМИ ПРОГЕСТЕРОНА ПАТОЛОГИЧЕСКИ ИЗМЕНЕННОГО ЭНДОМЕТРИЯ

Российский государственный медицинский университет, Москва

ИОХ им. Зелинского РАН, Москва

МОНИИАГ, Москва

**Задачи исследования.** Поиск соединений, направленно действующих на гиперпластически измененный эндометрий, с помощью исследования связывающих свойств прегна-D'-пентранов с цитозольными рецепторами прогестерона (РП).

**Материалы и методы.** В ходе работы использованы ткани эндометрия, полученные при гистероскопии и диагностическом выскабливании: железисто-фиброзные полипы (ЖФП, n=12), железисто-кистозная (ЖКК, n=25) и атипичная (АГ, n=12) формы гиперплазий эндометрия, аденокарциномы разной степени дифференцировки (АК, в целом n=32). Цитозольная фракция получена ультрацентрифугированием (105000 g), уровень РП и относительная связывающая активность (RBA%) определены радиолигандным методом с использованием [<sup>3</sup>H]-прогестерона «Amersham».

**Результаты.** Путем скрининга 9 производных прегна-D'-пентранов выявлены 2 соединения 16α,17α-циклогексано-5α-прегнан-3,20-дион (I) и 16α,17α-циклогексенпрогестерон (II), обладающие уникальными свойствами: практически не взаимодействуют с РП нормальной ткани эндометрия, они проявляют высокую связывающую активность к РП при гиперплазиях. RBA% (I) соответство-

вали в ЖФП – 2,3; ЖКГ – 50,0; АГ – 20,0; АК – 100,0; RBA% II - в ЖФП, ЖКГ и АК высокой степени дифференцировки – 0,0; АК умеренной степени дифференцировки – 32,0; АК низкой степени дифференцировки – 33,0 %. При этом соединение (I) в опытах на экспериментальных животных и изучении сократительной активности полосок беременного миометрия человека проявило антипрогестагенную, а соединение (II) – прогестагенную активность. Следовательно, соединение (I) может оказаться потенциально полезным в терапии прогестерон-зависимых гиперплазий, тогда как соединение (II) – в терапии эстрадиол-зависимых процессов.

**Выводы.** Найдены новые синтетические аналоги прогестинов, связывающиеся исключительно с РП патологически измененной ткани эндометрия. Использование подобных перспективных препаратов позволит избежать проявления системных побочных эффектов гормонотерапии.

*Т. И. Клочкова, М. Я. Шапкина, И. Р. Просалкова, А. В. Сергеев*

### ЭКСТРАКТ СОЛОДКИ СУХОЙ ЛИОФИЛИЗИРОВАННЫЙ

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

Корень солодки и препараты из него широко применяются в медицинской практике в качестве отхаркивающих, противовоспалительных, противоязвенных средств. Корень солодки содержит различные биологически активные вещества (БАВ) (лауразид, флавоноиды, слизистые и др.), а также глицирризиновую кислоту (ГК), содержание которой не менее 6 %. ГК по химической структуре – тритерпеноид, имеющий кетогруппу в 11 положении. В состав ГК входят 2 молекулы глюкуроновой кислоты, которые обуславливают её антитоксические свойства. Глюкуроновая кислота в нормальных условиях жизнедеятельности образуется в печени для защиты организма от токсических эндогенных и экзогенных соединений. При избыточной интоксикации организма возникает её дефицит. В фармацевтической практике основным способом получения сухого экстракта солодки (ЭС) является сушка с использованием термической обработки экстракта (распылительная сушка). Для повышения качества ЭС и сохранения в нём термолабильных БАВ разработан метод его сублимационной сушки. ЭС получали обычной экстракцией. Стандартизацию ЭС проводили по показателям ФСП 42-2390-02. Одним из основных элементов стандартизации ЭС является определение содержания в нём ГК. Определение содержания ГК в ЭС проводили спектрофотометрическим методом в соответствии с общепринятой методикой (ФСП 42-2390-02). Относительная ошибка определения составила  $\pm 2$  %. Содержание ГК в экстракте, полученном с помощью лиофилизации, находилось в пределах 20–25 %. Остальные показатели (описание, подлинность, потеря в массе при высушивании, содержание тяжелых металлов, микробиологическая чистота) находились в пределах нормы и соответствовали требованиям ФСП.

#### Содержание глицирризиновой кислоты в различных препаратах солодки

Наименование препарата из солодки	Содержание глицирризиновой кислоты, %
Корни солодки	Не менее 6,0
Сухой экстракт солодки	Не менее 17,0
Экстракт корня солодки густой	Не менее 14,0
Экстракт солодки лиофилизированный	От 20,0 до 25,0

Сравнительный анализ содержания ГК в различных препаратах солодки (см. таблицу) показал, что ЭС, полученный с использованием сублимационной сушки, сохраняет в себе больше БАВ по сравнению с традиционными препаратами. Экспериментальными исследованиями установлено, что лиофилизированный ЭС обладает антиоксидантными, иммуномодулирующими, антитоксическими свойствами.

*Е. Ю. Колдаева<sup>1</sup>, Е. Ю. Григорьева<sup>1</sup>, В. А. Братцев<sup>2</sup>, Дж. Моррис<sup>3</sup>, А. С. Масько<sup>1</sup>, Г. И. Борисов<sup>4</sup>, Р. А. Спрышкова<sup>1</sup>*

### ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ И БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЕ РОДАНОДОДЕКАБОРАТА НАТРИЯ – ПРЕПАРАТА ДЛЯ НЕЙТРОНОЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ

<sup>1</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

<sup>2</sup>ГНЦ ГНИИХТЭОС,

<sup>3</sup>Страстклайдский Университет, Великобритания

<sup>4</sup>ФГУ РНЦ «Курчатовский Институт», Москва

**Цель исследования.** Для выяснения возможности использования нового носителя <sup>10</sup>B при нейтронозахватной терапии (НЗТ) изучали токсикологические характеристики и биораспределение в организме мышей с привитой меланомой В16 роданодекабората натрия (1).

**Материалы и методы.** Исследование проводили на здоровых мышцах-самцах С<sub>57</sub>В1/6 массой 20–22 г. Для токсикологического исследования 1 вводили внутривенно в 0,2 мл физиологического раствора. Вводимые дозы варьировали от 47 до 306 мг <sup>10</sup>B / 1 кг массы тела. За животными наблюдали в течение 1 мес. Павших мышей вскрывали, оценивали выраженные изменения кожных покровов и внутренних органов. Выживших животных взвешивали, оценивали их общее состояние и поведение. Определяли значения максимально переносимой дозы (МПД), абсолютно смертельной дозы (LD<sub>100</sub>) и по методу Кербера рассчитывали среднюю смертельную дозу (LD<sub>50</sub>). Для изучения биораспределения водный раствор, содержащий <sup>10</sup>B из расчета 150 мг / 1 кг массы тела, внутривенно вводили животным на 11-й день после трансплантации опухолевых клеток. Животных декапитировали через 1; 3; 6; 12; 24 и 48 ч после введения. Забирали опухоль, кожу, мышцы, почки, печень, легкие, сердце. Содержание <sup>10</sup>B определяли методом нейтронрадиационного анализа на реакторе ИР-8 РНЦ «Курчатовский институт».

**Результаты.** При введении сублетальных доз не наблюдали видимых отклонений в состоянии и поведении животных. При введении летальных доз смерть наступала не ранее, чем через 24 ч. Визуализированных изменений внутренних органов не обнаруживали. Выжившие животные не имели признаков хронического отравления. LD<sub>50</sub> составляла 236,25 мг <sup>10</sup>B / 1 кг массы тела. МПД была равна 135 мг <sup>10</sup>B / 1 кг массы тела. Максимум концентрации <sup>10</sup>B в опухоли достигался через 1 ч после введения и был равен 47,4 мкг / 1 г ткани. Оптимальный градиент содержания <sup>10</sup>B между опухолью и прилежащими тканями достигался к 24 ч после введения: в опухоли определяли 15,9 мкг <sup>10</sup>B на 1 г ткани, в коже, мышцах и крови – в 1,7; 5,5; 3,4 раза меньше.

**Выводы.** Таким образом, 1 в сравнении с используемым в Японии, США и Европе BSH (<sup>10</sup>B-меркаптододекаборатом натрия) менее токсичен (МПД, LD<sub>100</sub> и LD<sub>50</sub> в 2 раза превышают таковые для BSH), а по степени накопления в опухоли в 3 раза превосходит BSH.

*Н. П. Коновалова*

### АНТИОКСИДАНТ-СОДЕРЖАЩИЕ ГИБРИДНЫЕ ПРЕПАРАТЫ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ

*Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка*

Работы по созданию новых противоопухолевых средств направлены на получение таких препаратов, которые при максимальном ингибировании роста опухолевых клеток минимально повреждали бы нормальные клетки и ткани организма. В этом плане значительный интерес представляет использование антиоксидантов для снижения общетоксических эффектов цитостатиков.

В работе представлены данные об исследовании молекул – гибридов, объединяющих цитостатики и антиоксиданты различной структуры.

Введение в структуру противоопухолевых препаратов нитроксильных радикалов, являющихся мощными антиоксидантами, приводит к значительному изменению их фармакологических свойств, что показано не только в эксперименте, но и в клинических условиях. В частности, значительно снижается или отсутствует проявление серьезных побочных эффектов противоопухолевых цитостатиков. Так, при клиническом исследовании разработанного в ИПХФ РАН препарата Рубоксил (нитроксильное производное Даунорубина) было показано отсутствие кардиотоксичности и алопеции.

Показан также значительный синергизм противоопухолевого действия цисплатина и его нитроксильного производного.

Нитроксильные производные цисплатина обладают определенным модулирующим эффектом на развитие лекарственной резистентности опухолей. Введение этих соединений повышает чувствительность к терапии лейкоми R388 с фенотипом множественной лекарственной устойчивости.

Исследована противоопухолевая активность гибридных молекул, где в качестве антиоксиданта были использованы структуры, являющиеся донорами монооксида азота.

Подобные гибридные молекулы проявляют более высокий антиметаболический эффект, чем исходные цитостатики, и являются менее токсичными.

Впервые показана возможность использования фуллеренов, обладающих антиокислительной активностью, как модуляторов противоопухолевого действия циклофосфана, адриамицина и других цитостатиков.

Показана перспективность создания для онкологических целей гибридных молекул, содержащих донор оксида азота и нестероидный противовоспалительный препарат.

*С. Н. Корякин, С. Е. Ульяненко, А. А. Лычагин*

### ОЦЕНКА КОЭФФИЦИЕНТА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ БОРСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ

*ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск*

В радиотерапии важным критерием при планировании лучевого воздействия является относительная биологическая эффективность (ОБЭ). При борнейтронозахватной терапии (БНЗТ) ОБЭ продуктов реакции  $^{10}\text{B}(n,\alpha)^7\text{Li}$  точно не установлена, однако по литературным данным она не превышает 8 и находится в пределах от 2 до 6. Рядом исследовательских групп показана различная биологическая эффективность реакции  $^{10}\text{B}(n,\alpha,\gamma)^7\text{Li}$  для борсодержащих соединений, для которых концентрация бора в опухоли на момент проведения БНЗТ была одинаковой. В связи с этим при расчете поглощенной дозы при БНЗТ вместо ОБЭ используют более корректное понятие «биологическая эффективность соединения» (БЭС). Этот коэффициент учитывает комбинацию радиобиологических свойств частиц, образующихся из БНЗ реакции, и вероятности попадания этих частиц в чувствительную клеточную мишень. При этом последняя будет зависеть от геометрического расположения бора относительно мишени. На коэффициент БЭС могут влиять способ введения соединения, характер накопления бора в ткани и клетке, доза за фракцию, а также размер клеточного ядра. Поэтому необходимо, чтобы экспериментальные условия определения значения БЭС были как можно ближе к клинической схеме проведения БНЗТ.

Изучение биологической эффективности 2 борсодержащих соединений BSH и ВРА, применяемых в клинической практике БНЗТ, выявили значительные отличия их действия на биологические ткани. На основании исследований на модельных опухолях принято считать, что для ВРА и BSH БЭС составляет 3,8 и 2 для опухолей головного мозга, 1,3 и 0,3–0,5 для головного мозга, 2,5 и 0,8 для кожи соответственно. Оценка коэффициента БЭС представляет значительные трудности, так как требует изучения как внутритканевого, так и внутриклеточного распределения бора, которое носит индивидуальный характер.

В МРНЦ РАМН ведутся исследования по оценке БЭС на основании использования радиоактивной метки  $^{131}\text{I}$  борсодержащих соединений как на организменном, так и на клеточном уровне. В качестве модели используются мыши с имплантированной под кожу бедра меланомой В16. Полученные результаты позволяют определить концентрацию бора в опухоли и окружающих тканях, а также рассчитать индивидуальную поглощенную дозу в зоне нейтронного воздействия, то есть проводить индивидуальное планирование нейтронозахватной терапии.

*Т. М. Кулинич, В. К. Божженко, Е. И. Филясова*

### ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОСТАТИЧЕСКИХ И ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ХИМЕРНЫХ ПЕПТИДОВ, ВКЛЮЧАЮЩИХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ P16INK4A И P21CIP/KIP

*ФГУ РНЦРР Росздрава, Москва*

**Цель исследования.** Изучение изменения цитотоксических и цитостатических свойств химерных пептидов, содержащих фрагменты

ингибиторов циклиновых киназ P16INK4a и P21CIP/KIP в зависимости от структуры и положения пептидного вектора.

**Материалы и методы.** Было исследовано 6 химерных интернализуемых пептидов (p16-Antrp (1,2,3), Antrp-p16, Tat-p16 и Tat-p21). Данные пептиды отличаются по структуре интернализуемой последовательности (Tat, Antrp), по ее местоположению в последовательности пептида (N- или C-конец для пептидов Antrp-p16 и p16-Antrp) и по функциональной последовательности активного центра (p16INK4a является ингибитором киназ циклина D, p21CIP/KIP – ингибитором всех циклиновых киназ). Эффекты исследовались на синхронизованных и несинхронизованных культурах клеток человека 293, A549, MCF-7, Raji, Jurkat, а также на мононуклеарной фракции нормальных лейкоцитов крови человека. Для синхронизации клеток в G0/G1-фазе клеточного цикла использовали метод сыровоточного голодания или инкубацию с гидроксимочевинной в концентрации 1 мМ. Для синхронизации в G2/M-фазе клеточного цикла использовали таксол в концентрации 100 нМ. Клетки фиксировали, окрашивали пропидий йодидом и анализировали на проточном цитометре DAKO Galaxy. Апоптоз оценивали как субдиплоидный пик при окраске фиксированных образцов с пропидием йодидом (PI) или при двойной окраске AnnexinV-PI.

**Результаты.** Цитотоксическое и цитостатическое действие химерных пептидов наблюдалось в образцах со всеми пептидами по сравнению с контролем, независимо от типа синхронизации и структуры пептида. При исследовании концентрационной зависимости цитотоксического действия химерных пептидов было обнаружено, что в концентрации до 5 мкМ пептиды практически не влияют на клетки, а свыше 40 мкМ наблюдается довольно резкий скачок в увеличении количества апоптотических частиц до максимального уровня в 80 % всего количества клеток. Было показано, что наиболее сильным цитотоксическим действием обладает пептид Antrp-p16 с транспортной последовательностью Antrp, расположенной на N-конец. Остальные пептиды располагались по возрастанию эффективности в такой последовательности: Tat-p16, p16-Antrp, Tat-p21. При синхронизации отсутствием сыворотки наблюдали задержку в G0/G1-фазе клеточного цикла и задержку максимума G2/M-фазы по сравнению с контролем на 3–4 ч, вызванную действием пептидов. При синхронизации с гидроксимочевинной для всех пептидов получили задержку S-фазы и увеличение ее длительности. При синхронизации таксолом для пептида Antrp-p16 наблюдали задержку в фазе G0/G1, а различия в фазах S и G2/M по сравнению с контролем были минимальны. Для пептида Tat-p21 получили задержку в G1- и S- фазах и не получили достоверных отличий от контроля для G2/M-фазы.

Противоопухолевый эффект был подтвержден в исследованиях *in vivo* на перевивной модели рака молочной железы у мышей линии BLRB. При этом наблюдалось замедление роста опухоли при подкожном введении химерного пептида Tat-p21 на 30 %.

**Выводы.** Цитотоксические и цитостатические свойства выше у пептидов, содержащих последовательность из белка p16INK4a в сочетании с транспортной последовательностью из белка Anteparedia, расположенной на его N-конец. Таким образом, структура и положение пептидного вектора существенно влияют на биологическую активность химерных пептидов, что необходимо учитывать при конструировании потенциальных противоопухолевых препаратов.

*О. И. Курбанова, Т. М. Фузаилова, Ш. Ш. Султанова, А. И. Хасанов, З. М. Еникеева*

### ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА КОЛХИПРИТ

*Республиканский онкологический научный центр МЗ РВз, Ташкент*

**Задачи исследования.** Разнообразие форм онкологических заболеваний и быстро возникающая устойчивость к препаратам диктует необходимость расширения арсенала противоопухолевых препаратов, воздействующих на опухоли. Мы изучаем соединение, полученное синтезом азотистого аналога иприта с колхицином, названное колхиприт (К-20). Высокая активность К-20 показана на всех 60 опухолевых линиях человека в Национальном институте рака США (NCI). В задачи исследования входило изучение противоопухолевой активности колхиприта на штаммах КСУ, саркома 45, АКАТОЛ, АКАТОН,

саркома 180, аденокарцинома Эрлиха и меланома В16 при внутривенном введении.

**Материалы и методы.** Приведенные данные по изучению активности колхиприта определялись общепринятым методом по рекомендациям (Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США. / под ред. Софьиной З. П., Сыркина А. Б. и др. – М.: Медицина, 1980), когда препарат вводится ежедневно 10 раз в МПД<sub>10</sub>. Лечение начинается через 48 ч при воздействии на опухоли мышей и через 3–4 сут в случае КСУ и саркомы 45.

**Результаты.** Препарат колхиприт апробирован нами при внутривенном введении на 7 экспериментальных опухолевых штаммах. Влияние этого вещества на опухоли было наиболее выраженным на АКАТОHe – 90, 55%, где при его применении в МПД наблюдалось значительное количество рассосавшихся опухолей. На АКЭ СПЖ было равно 175,53 %. Также высокий противоопухолевый эффект препарат показал на опухоли АКАТОЛ, где в зависимости от дозы %ТРО был равен 85,65 % (4 мг/кг) и 79,55 % (3 мг/кг). На штаммах саркома 45 и карциносаркома Уокера препарат проявил активность более 60%. На штаммах саркома 180, меланома В16 активность препарата не была высокой, однако он был более активен, чем исходный колхицин и известный в онкологии колхамин.

**Выводы.** Выявлен выраженный противоопухолевый эффект колхиприта, который на 3 штаммах опухолей превышает 70 %, что позволяет считать его перспективным противоопухолевым препаратом. Судя по данным *in vitro*, он может обладать в клинике широким спектром противоопухолевого действия.

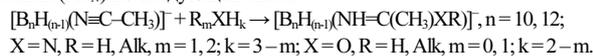
*М. В. Лисовский, А. П. Жданов, К. Ю. Жижин, Н. Т. Кузнецов*  
**НОВЫЙ МЕТОД ПОЛУЧЕНИЯ  
 БОРСОДЕРЖАЩИХ БИОЛОГИЧЕСКИ  
 АКТИВНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ДЛЯ БНЗТ**

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

Для успешной реализации борнейтронозахватной терапии раковых опухолей (БНЗТ) необходимо осуществить направленный синтез веществ, которые способны избирательно доставлять в клетки злокачественных опухолей терапевтическое количество бора-10, обеспечивать его оптимальное микрораспределение и оставаться в клетках в течение необходимого для облучения периода времени. В настоящее время отсутствуют прямые методы присоединения биологически активных транспортных групп к высшим кластерам бора  $[B_nH_n]^{2-}$  ( $n = 10, 12$ ). Поэтому возникает необходимость разработки новых методов присоединения биологически активных транспортных групп к различным функциональным производным *клого*-боратных анионов  $[B_nH_n]^{2-}$  ( $n = 10, 12$ ).

Нами разработан новый метод получения ковалентных борсодержащих биологически активных производных на основе нитрильных замещенных *клого*-боратных анионов  $[B_nH_{(n-1)}(N\equiv C-CH_3)]^-$  ( $n = 10, 12$ ) и биологически активных веществ, имеющих в своем составе свободную гидроксо- или амино-группу.

При взаимодействии анионов  $[B_nH_{(n-1)}(N\equiv C-CH_3)]^-$  ( $n = 10, 12$ ) с нуклеофилами (аминами, спиртами) в мягких условиях и с количественным выходом образуются производные нуклеофильного присоединения ( $Ad_N$ ) по следующей схеме:



Синтезированы, выделены и охарактеризованы различными методами производные, содержащие в своем составе в качестве биологически активной транспортной группы холестерин и холин. Полученные соединения обладают высокой гидролитической стабильностью, а натриевые соли – водорастворимостью и высоким содержанием бора. Следует отметить, что новые выделенные соединения относятся к принципиально новому, еще не изученному классу соединений (амидов и амидинов) для целей БНЗТ, однако в случае обнаружения низкой токсичности и высокой селективности данные производные могут быть рекомендованы для БНЗТ раковых опухолей.

*О. М. Московцева, Т. Г. Щербатюк*

**ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ  
 СУКЦИНАТСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ  
 НА СОСТОЯНИЕ ОРГАНИЗМА**

**СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ОПУХОЛЮ**

*ГОУ ВПО НижГМА, Нижний Новгород*

**Задачи исследования.** 1) Сравнить действие янтарной кислоты (ЯК), олигосахарида хитозана сукцината (ОхС) и олигосахарида хитозана сукцинат-аскорбата (ОхСА) на рост опухоли и продолжительность жизни животных при введении данных препаратов до трансплантации экспериментальной опухоли; 2) Оценить влияние сукцинатсодержащих препаратов на состояние свободнорадикальных процессов, уровень эндогенной интоксикации организма животных-опухоленосителей, а также морфологическую структуру ткани печени и опухоли экспериментальных животных.

**Материалы и методы.** Исследования выполнены на 94 белых нелинейных крысах-самцах (массой  $270 \pm 25$  г) при использовании перевивной опухоли лимфосаркомы (ЛФС) Плисса, приобретенной в НИИ ЭДито РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (г. Москва). Исследуемые препараты вводили с помощью зонда в желудок в виде раствора концентрацией 100 мг/кг веса (курс 7 дней). На 1-м этапе исследования препараты вводили до трансплантации опухоли; на 2-м – с 3-го и 6-го дней после трансплантации опухоли. Оценка результатов воздействия осуществлялась на следующий день после окончания манипуляций. В плазме крови оценивали уровень эндогенной интоксикации; интегральные показатели свободнорадикальной и общей антиоксидантной активности методом индуцированной хемилуминесценции; а также проводили морфологическое описание тканей печени и ЛФС Плисса с морфометрическим анализом.

**Результаты.** Введение ОхСА до трансплантации опухоли тормозит ее рост на 64 %, что способствует увеличению продолжительности жизни животных на 78 % ( $p \leq 0,05$ ). Применение ОхСА на ранних сроках роста опухоли восстанавливает свободнорадикальный баланс и достоверно снижает уровень эндогенной интоксикации (на 25 % и 26 % по сравнению с контролем) в плазме крови экспериментальных животных, а также приводит к увеличению числа нормальных (в 1,6 раза) и двуядерных (в 1,7 раза) гепатоцитов, снижает общее количество клеток ЛФС Плисса в результате увеличения количества дегенерирующих опухолевых клеток в 4,7 раза и уменьшения числа активных клеток опухоли на 47 % по сравнению с аналогичными показателями животных контрольной группы.

**Выводы.** Таким образом, введение препарата олигосахарид хитозан сукцинат-аскорбата до перевивки ЛФС Плисса тормозит рост опухоли, что увеличивает продолжительность жизни животных, а на ранних сроках роста опухоли нормализует состояние организма и восстанавливает структуру ткани печени на фоне деструктивных изменений опухоли.

*Ш. К. Мухамедаминов, Т. К. Холиков, Д. Ф. Хакимова,  
 Т. П. Агеева, З. Р. Сабирджанова, Р. Х. Усманов,  
 З. М. Еникеева*

**ИССЛЕДОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ДЭКОЦИНА –  
 НОВОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО  
 ПРЕПАРАТА, ПОЛУЧЕННОГО  
 ИЗ КОЛХИЦИНА**

*Республиканский онкологический центр МЗ Республики Узбекистан, Ташкент*

**Задачи исследования.** В задачи исследования входило изучение применения нового противоопухолевого препарата Дэкоцин больным 3–4-й стадий заболевания (более 70 больных с различными локализациями).

**Материалы и методы.** Для лечения рака кожи Дэкоцин применялся в виде 3–5%-ной мажевой формы (3%-ной – для лечения базальноклеточного и 4–5%-ной – плоскоклеточного рака), для лечения опухолей толстой кишки – 3–5%-ная мазь и суппозитории; вульвы, шейки матки – 1–2%-ная мазь и суппозитории. Лечение получали больные с морфологически верифицированным диагнозом, 3–4-й стадий заболевания, а также с раком *in situ* – вульвы и влагалища (более 70 больных с различными локализациями), которым назначали Дэкоцин в соответствующих концентрациях, как правило, 1 курс – 10 аппликаций Дэкоцина в 1 г.

**Результаты.** Среди больных, леченных мазью и суппозиториями Дэкоцина (рак шейки матки, влагалища, вульвы, прямой кишки), распад опухоли наступал после 3–5-кратного применения. 8–10-кратное смазывание базилиом приводит к выраженному (50%-ному) умень-

шению размеров опухоли. Имеются случаи улучшения состояния больных аденокарциномой кишечника (4-я стадия) и уменьшения размеров опухолей, а также случай 5-летней ремиссии (на сегодняшний день) у больной 3-й стадии (10 ежедневных 3%-ных суппозиторий Дэкочина, затем облучение в количестве 33 Гр). Как правило, среди добровольцев большее количество больных раком кожи, ранее получавших различное лечение и резистентных к облучению. С другой стороны, совместное применение Дэкочина и облучения дает высокий процент излечения, причем достаточно 5-кратных аппликаций Дэкочина.

**Выводы.** Полученные данные указывают на высокую чувствительность к 2–5%-ной мази Дэкочин рака кожи, а также других локализаций, причем он не вызывает лейкопении и депрессии иммунной системы у больных даже при длительном применении.

А. М. Раисова<sup>1</sup>, Е. С. Утеулиев<sup>1</sup>, Ж. С. Бейсеналинова<sup>2</sup>,  
С. С. Альжанов<sup>2</sup>, С. М. Адекенов<sup>2</sup>

### ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРЕПАРАТА АРГЛАБИН В ТЕРАПИИ Фолликулярных Аденом Щитовидной Железы

<sup>1</sup>НИИ кардиологии и внутренних болезней, Казахстан, Алматы

<sup>2</sup>Научно-производственный центр «Фитохимия», Казахстан, Караганда

**Введение.** В последнее десятилетие наряду с медикаментозной терапией доброкачественных опухолей щитовидной железы врачи широко используют малоинвазивные методы лечения, включающие в себя интрамуральный путь введения различных препаратов в зависимости от морфологического строения узлового образования.

**Цель исследования.** Изучить эффективность препарата арглабин в терапии узлового зоба.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 20 пациентов с цитологической картиной, характерной для фолликулярной аденомы щитовидной железы. Возраст больных от 18 до 63 лет. Гормональный статус больных – эутиреоз. Всем больным было проведено ультразвуковое исследование щитовидной железы, тонкоигольная биопсия под контролем УЗИ с последующим цитологическим исследованием по методу Папаниколау, определение функциональной активности щитовидной железы и гипопиза ИФА-методом (свТ3, свТ4, ТТГ, аТПО, аТГ), а также исследования иммунного статуса (клеточное звено: CD3, CD4, CD8, CD16, ИРИ (иммунорегуляторный индекс), CD4/CD8; гуморальное звено: IgA, IgG, IgM). Было проведено интрамуральное введение препарата арглабин, растворенного в 1,0 мл физиологического раствора NaCl. Курс лечения составлял 5 инъекций. Контроль эффективности проводится через 6 мес.

**Результаты.** У 3 больных (15 %) по данным УЗ-исследования уменьшения объема узлового образования не наблюдалось. 2 пациента (10 %) не явились на повторное исследование. У 15 больных (75 %) отмечалось уменьшение объема узлового образования на 1/3–1/2 объема. Что касается иммунного статуса, то во всех случаях отмечалось угнетение клеточного звена иммунитета, снижение общего количества CD4 и CD8 (%) лимфоцитов. После проведенного лечения у 17 больных (85 %) отмечалось улучшение показателей CD4 и CD8 (%).

**Выводы.** Таким образом, применение препарата арглабин в терапии доброкачественных узловых поражений щитовидной железы приводит не только к уменьшению узлового образования, но и к качественной иммунокоррекции организма в целом. Дальнейшее наблюдение продолжается.

Н. Т. Райхлин<sup>1</sup>, Ф. Ф. Бланко<sup>1</sup>, Е. В. Степанова<sup>1</sup>,  
Л. А. Седакова<sup>1</sup>, А. М. Трегалина<sup>1</sup>, А. М. Беркович<sup>2</sup>

### ИЗУЧЕНИЕ АНТИАНГИОГЕННЫХ СВОЙСТВ НОВОГО ПРЕПАРАТА БУТАФОЛ

<sup>1</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

<sup>2</sup>ООО «Лигфарм», Москва

**Введение.** Бутафол представляет собой многокомпонентную смесь веществ гуминовой природы, для которого ранее нами выявлена способность ингибировать процессы неоангиогенеза в опухоли, в том числе активность важнейшего регулятора ангиогенеза – фактора роста эндотелия сосудов VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor).

**Цель исследования.** Оценка влияния бутафола на состояние ангиогенеза в новообразованиях *in vivo* и *in vitro*.

**Задачи исследования.** 1) Определение размеров опухоли под влиянием бутафола; 2) Гистологическое и иммуногистохимическое (ИГХ) изучение ангиогенеза в опухоли под действием бутафола; 3) Изучение влияния бутафола на пролиферативную активность эндотелиальных клеток (ЭК) человека, способность их к миграции и образованию трубочко-подобных структур (ТПС).

**Материалы и методы.** Исследования *in vivo* проведены на мышах с п/к трансплантированной меланомой B16; *in vitro* – на культуре ЭК мыши *SVEG-4-10*, трансформированных вирусом *SV40*. При гистологическом исследовании опухоли оценивали число митозов, С помощью ИГХ исследования VEGF определяли плотность распределения сосудов, интенсивность реакции и число опухолевых клеток, содержащих VEGF. На культуре ЭК оценивали цитотоксичность бутафола, влияние на стимулированную *bFGF* пролиферативную активность, способность к миграции и образованию ТПС.

**Результаты.** Под влиянием бутафола опухоли уменьшаются в диаметре (от 3–4 см до 0,5–1,5 см). Снижается количество митозов (от 2–5 % до 1–3 %), индекс плотности распределения сосудов (от 20–30 до 10–17), а также количество опухолевых клеток, содержащих VEGF, и интенсивность в них реакции (примерно в 1,5–2 раза). Бутафол *in vitro* блокирует пролиферацию ЭК, полностью или частично (в зависимости от его концентрации), а также их миграцию и образование ТПС, но не оказывает цитотоксического действия.

**Выводы.** Установлено, что бутафол снижает уровень VEGF в клетках меланомы B16, подавляет образование и рост кровеносных сосудов в опухоли и таким образом ингибирует ее ангиогенез. Бутафол ингибирует пролиферацию и миграционную способность эндотелиальных клеток мыши *SVEG-4-10*, трансформированных вирусом *SV40*. Полученные данные свидетельствуют о взаимосвязи противоопухолевого и антиангиогенного действия препарата.

А. Н. Савченко<sup>1</sup>, В. А. Ольшевская<sup>1</sup>, М. В. Мальшакова<sup>2</sup>,  
О. Г. Иванов<sup>3</sup>, Д. В. Бельх<sup>2</sup>, А. В. Кучин<sup>2</sup>, А. А. Штиль<sup>3</sup>,  
В. Н. Калинин<sup>1</sup>

### БОРИРОВАННЫЕ ПРИРОДНЫЕ ПОРФИРИНЫ И ХЛОРИНЫ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПРОТИВОРАКОВЫЕ ПРЕПАРАТЫ

<sup>1</sup>Институт элементоорганических соединений

им. А. Н. Несмеянова РАН, Москва

<sup>2</sup>Институт химии Коми Научного центра УрО РАН, Сыктывкар

<sup>3</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

**Введение.** Одно из направлений поиска противоопухолевых препаратов – использование полициклических соединений бора – карборанов и соединений, способных накапливаться в быстро пролиферирующих тканях. Особый интерес представляют порфирины – макроциклические молекулы, входящие в состав простетических групп ряда ферментов, участвующих в регуляции важных физиологических процессов. Относительно низкая токсичность порфиринов и их способность накапливаться преимущественно в злокачественных клетках – важные преимущества этих соединений для борнейтронзахватной и фотодинамической терапии.

**Цель исследования.** Разработка методов синтеза конъюгатов протогемина IX и хлорина еб с анионным 1-карба-κ-лозо-додекаборатным полиэдром (монокарбакарбораном) с целью оптимизации противоопухолевых характеристик карборанилпорфиринов и исследование биологической активности полученных веществ.

**Результаты.** Впервые получены конъюгаты цвиттер-ионного монокарборанилзамещенного протогемина IX с метиловыми эфирами L-аминокислот (серина, валина, треонина, тирозина и фенилаланина), в которых аминокислоты L-ряда связаны со свободной карбоксильной группой порфирина амидной связью. Также изучено образование конъюгатов порфирина с оксазаборолединовыми комплексами L-серина и L-треонина, в которых порфириновый макроцикл связан сложной эфирной связью с соответствующей L-аминокислотой и содержит свободные амино- и карбоксильные группы на периферии макроцикла. Разработаны методы синтеза конъюгатов хлорина еб с 1-трифторметан-сульфонилметил-κ-лозо-карборанилом и монокарборанилом цезия. Испытания на культурах клеток человека показали, что

синтезированные соединения водорастворимы и нетоксичны в концентрациях до 50 мкМ.

**Выводы.** Борированные производные протогемина, содержащие водорастворимый монокарбакарборан, обладают свойствами, необходимыми для создания противоопухолевых препаратов.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №05-03-08155офи\_а.*

*А. В. Сергеев, Т. А. Алиева, Ф. Ф. Бланко, С. А. Сасов, Е. М. Трещалина, М. Я. Шапкина*

### ИММУНОМОДУЛИРУЮЩАЯ И ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ

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

**Введение.** Полисахариды (ПС) широко распространены в растительном мире и обладают значительным спектром физиологической активности.

**Цель исследования.** Сравнительное изучение иммуностропной и противоопухолевой активности ПС, полученных из надземной части сабельника болотного (СБ), свербиги восточной (СВ), тагетеса гибридного (ТГ), Иван-чая (ИЧ).

**Материалы и методы.** ПС выделены из водных экстрактов растений после предварительной обработки сырья горячим 80%-ным этиловым спиртом. Выделение ПС проводили по методике, адаптированной для каждого отдельного объекта. Пролиферативную и цитолитическую активность лимфоцитов и Т-киллеров из смешанной культуры лимфоцитов (СКЛ) определяли по включению <sup>3</sup>H-тимидина в ДНК лимфоцитов и по выделению <sup>51</sup>Сг из клеточных мишеней.

**Результаты.** Определен моносахаридный состав ПС из СБ и ТГ. По содержанию галактуроновых кислот (более 50 %) и по данным ИК-спектров ПС из СБ и ТГ относятся к классу пектинов. Среднемолекулярная масса ПС из СБ и ТГ равнялась 80 и 31,6 КД соответственно. Все ПС в широком диапазоне концентраций (0,1–10 мг/мл) достоверно стимулировали пролиферативную активность лимфоцитов периферической крови онкологических больных. Все изученные ПС в оптимальной для каждого препарата концентрации стимулировали в 1,4–2,3 раза пролиферативный ответ спленоцитов мышей BALB/c, трансформированных Кон А или аллоантигенами в СКЛ, а также дополнительное образование Т-киллеров в СКЛ. В исследованиях по иммунофармакологии показано, что ПС из СБ, ТГ и Иван-чая при длительном (до 6 нед) введении мышам *per os* в дозе 10 и 100 мг/кг увеличивали в 1,5–2,5 раза дополнительное образование Т-киллеров в СКЛ. ПС из СБ, ТГ и СВ повышали пролиферативную активность спленоцитов и образование Т-киллеров в СКЛ у мышей со вторичным иммунодефицитом, индуцированным цитостатиком арнозой. ПС из СБ, ТГ и СВ при введении животным в дозах и режимах, вызывающих максимальную индукцию Т-киллеров, эффективно тормозили рост перевиваемой саркомы 180 у линейных мышей BALB/c и не влияли на рост опухолевых клеток у бестимусных животных (BALB/c nude). ПС из СБ, ТГ и СВ при длительном ежедневном введении мышам *per os* в дозе 0,05–0,1 г/кг тормозили на 80–90 % рост перевиваемой саркомы 180 и аденокарциномы молочной железы Са-755.

**Выводы.** Учитывая крайне низкую токсичность изученных растительных ПС и наличие у них иммуномодулирующих и противоопухолевых свойств, можно рассматривать их в качестве потенциальных средств для химиопрофилактики рака (Cancer Chemoprevention).

*В. Б. Сирота<sup>1</sup>, А. Х. Досаханов<sup>1</sup>, Е. В. Кострова<sup>2</sup>, Н. В. Бочкова<sup>2</sup>*

### РАДИОМОДИФИКАЦИЯ ПРИ ИНТЕНСИВНОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

<sup>1</sup>Казахандинская государственная медицинская академия,

Казахстан, Караганда

<sup>2</sup>ГКГП «Карагандинский областной онкологический центр»,

Казахстан, Караганда

**Цель исследования.** Сравнительная оценка радиомодифицирующего действия арглабина при интенсивной лучевой терапии (ИЛТ) больных раком молочной железы (РМЖ).

**Материалы и методы.** В исследование включены 128 больных РМЖ от 33 до 76 лет. С I стадией – 6 больных, со II – 141, с III – 31. Лечение больных РМЖ проводилось методом «слепой» рандомизации. Всем больным на I этапе проводилась предоперационная ИЛТ в режиме среднего фракционирования с дневным дроблением дозы. РОД 2 Гр подводилась дважды в день с интервалом 4–4,5 ч между фракциями до физической СОД 28–32 Гр за 8 дней. Эквивалентная СОД составила 42–45 Гр стандартного фракционирования (ВДФ – 65,6–75 ед., КРЭ – 1352–1475 ед.). На II этапе выполнялась радикальная мастэктомия по Пейти или Маддену через 24–72 ч после облучения с последующей химиогормонотерапией. В 1-ю группу вошли 36 больных, получивших ИЛТ без радиомодификации. Во 2-ю группу включена 31 больная с ИЛТ с радиомодификацией арглабином. Арглабин вводился внутривенно из расчета 5 мг/кг или 185 мг/м<sup>2</sup> ежедневно утром за 15–20 мин до сеанса облучения. 3-я группа – 31 больная РМЖ с ИЛТ в сочетании с пероральным приемом капецитабина из расчета 1250 мг/кг дважды в день в течение 8 дней. 4-ю группу составили 30 больных, которым ИЛТ проведена на фоне трансдермальной (апликационной) радиомодификации салфетками «коллекс» с 5-фторурацилом.

**Результаты.** При сравнении клинического эффекта ИЛТ не получено достоверной разницы между этими группами. Положительный клинический эффект наблюдался у 30,6±7,7 % пациенток в группе, получавших только ИЛТ, у 38,7±8,7 % больных, получавших ИЛТ с арглабином, у 25,8±7,9 % пациенток, получавших ИЛТ с кселодой и у 33,3±8,6 % больных с ИЛТ с 5-ФУ. В 1-й группе больных объем опухоли уменьшился в 1,2 раза, во 2-й – в 1,9 раз, в 3-й и 4-й – в 1,5 раз. Патоморфоз опухоли III+IV степени в 1-й группе составил 11,1±5,2 %, во 2-й – 35,5±8,6 %, в 3-й – 19,4±7,1 % и 4-й – 33,3±8,6 %. Патоморфоз опухоли III+IV степени при ИЛТ с 5-ФУ и арглабином достоверно превышает аналогичный показатель при ИЛТ без радиомодификации.

**Выводы.** При ИЛТ у больных РМЖ более выраженный радиомодифицирующий эффект выявлен при использовании арглабина, который проявился в большем регрессе самой опухоли и учащении выраженного (III+IV) постлучевого патоморфоза опухоли на 24,4 % по сравнению с ИЛТ без радиомодификации.

### З. С. Смирнова, И. Ю. Кубасова, Л. М. Борисова, М. П. Киселева, Т. Д. Миникер, И. Л. Плихтяк, С. Я. Мельник

### КОРРЕЛЯЦИЯ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ И ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ В ОТНОШЕНИИ ЛЕЙКОЗОВ В РЯДУ N-ГЛИКОЗИЛИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ИНДОЛО[2,3-А]КАРБАЗОЛА

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

**Введение.** Установлено, что противоопухолевая активность N-гликозилированных производных индоло[2,3-а]карбазола может быть обусловлена действием на одну или несколько мишеней, например, протейкиназу С, топоизомеразы, циклинзависимую киназу CDK1, ДНК. Ранее было показано, что на силу и спектр цитотоксической активности в значительной мере влияет природа гликозидного остатка. Задачей настоящего исследования являлась оценка влияния заместителя у имидного азота N-гликозилированных производных индоло[2,3-а]карбазола на корреляцию цитотоксической и противоопухолевой активности в отношении лейкозов. Были изучены гликозиды АК-1006 и АМК-1054, имеющие одинаковые углеводные фрагменты α-L-арабинозы, но отличающиеся структурой агликона. Соединение АМК-1054 имеет заместитель у имидного азота – 2-(4-морфолино)этил.

**Материалы и методы.** Данные о цитотоксической активности в отношении 6 клеточных линий лейкозов человека (CCRF-CEM, HL-60, K-562, MOLN-4, RPMI-8226, SR) были получены в Национальном институте рака США. Для оценки спектра цитотоксической активности учитывали IC<sub>50</sub><1,0×10<sup>-8</sup> М. Противоопухолевую активность исследовали на лимфоцитарной лейкемии P-388. Гликозиды вводили внутривенно, ежедневно в течение 5 дней в широком диапазоне доз от 10 до 125 мг/кг. Критерием эффективности служило увеличение продолжительности жизни опытных животных по сравнению с контрольными (УПЖ, %).

**Результаты.** Показано, что АК-1006 проявляет высокую цитотоксическую активность на 2 из 6 (CCRF-CEM и SR), а АМК-1054 – на 4 из 6 (CCRF-CEM, HL-60, MOLN-4 и SR) клеточных линиях лейкозов человека. При изучении противоопухолевой активности в отношении P-388 был выявлен более высокий терапевтический эффект соединения АМК-1054 по сравнению с АК-1006. АМК-1054 в терапевтической дозе 100 мг/кг вызывал УПЖ=119 %, а в дозе 125 мг/кг ( $\cong$  LD<sub>16</sub>) УПЖ составляло 144 %, тогда как при действии на P-388 АК-1006 в терапевтической дозе 40 мг/кг УПЖ=41 %, а в дозе 50 мг/кг ( $\cong$  LD<sub>16</sub>) УПЖ было равно 85 %.

**Выводы.** Установлено, что имеется прямая корреляция между шириной спектра цитотоксической активности на клеточных линиях лейкозов человека и противоопухолевой эффективностью в отношении P-388 N-гликозилированных производных индоло[2,3-а]-карбазола с разными заместителями у имидного азота.

Л. И. Смирнова, А. П. Смирнова, Л. П. Сушинина,  
С. В. Устинкина, Т. А. Сидорова,  
Т. И. Солнцева, Г. К. Герасимова

### СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ФРАГМЕНТОВ ГАСТРИНА

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

**Цель исследования.** Поиск новых соединений с высокой избирательностью противоопухолевого действия на опухоли желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), которые малочувствительны к современным противоопухолевым препаратам.

Открытие рецепторов гастрин в опухолях ЖКТ оправдывает направленный поиск высокоизбирательных соединений среди его аналогов.

**Материалы и методы.** Аналоги С-концевого гастрин синтезировали классическими методами пептидной химии. Для защиты  $\alpha$ -аминогрупп на всех стадиях синтеза применяли трет-бутилоксикарбонильную группу. Карбоксильные группы С-концевых аминокислотных остатков фрагментов защищали этерификацией (метилловые эфиры). Для защиты реакционноспособных групп в боковых цепях трифункциональных аминокислот использовали бензильную защиту. Для удаления бензильных защитных групп боковых цепей тирозина и аспарагиновой кислоты использовали метод каталитического гидрогенолиза в присутствии палладиевой черни. Для очистки пептидов использовали колоночную хроматографию на силикагеле.

Цитотоксические свойства синтезированных соединений в диапазоне концентраций  $4 \times 10^{-4}$  –  $5 \times 10^{-5}$  М были изучены на клетках аденокарциномы кишечника человека линии НСТ-116, экспрессирующей рецепторы гастрин. Цитотоксическую активность соединений определяли МТТ-тестом. Критерием активности был индекс IC<sub>50</sub> – концентрация соединений, вызывающая гибель 50 % клеток после 96 ч инкубации.

**Результаты.** Были получены 2 гептапептида с защищенными функциональными группами и цитотоксический аналог гастрин – октапептид, содержащий в своем составе п-ди(2-хлорэтил) аминофенилуксусную кислоту. После снятия защит получены и охарактеризованы 3 аналога гастрин со свободными функциональными группами, которые переданы для изучения цитотоксической активности. При максимально возможной концентрации веществ ( $5 \times 10^{-5}$  М) в экспериментах *in vitro* жизнеспособность клеток в присутствии цитотоксического аналога гастрин снижалась на 40 %. В этих же условиях в присутствии двух нецитотоксических аналогов гастрин рост клеток замедлялся на 15 %.

**Выводы.** Полученные результаты являются основанием для дальнейших модификаций химической структуры С-концевых фрагментов гастрин и изучения их специфического связывания с рецепторами.

А. В. Тришин<sup>1</sup>, Н. К. Ахматова<sup>2</sup>, Д. Н. Сухарев<sup>1</sup>,  
Ф. В. Доненко<sup>2</sup>, С. Г. Зайчикова<sup>1</sup>

### ВЛИЯНИЕ ЛЕКТИНОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА ПРОТИВООПУХОЛЕВУЮ ЦИТОТОКСИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ

<sup>1</sup>ММА им. И. М. Сеченова, Москва

<sup>2</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

**Введение.** Лектины – сложные мультидоменовые белки с сахаросвязывающей активностью, которая обеспечивается карбогидрат-распознающим доменом. Лектины способны проявлять митогенную и иммуномодулирующую активность. В последние годы появились сведения о биологической активности лектинов гороха, клевера и других представителей бобовых.

Цель исследования. Изучение влияния лектинов растительного происхождения на цитотоксическую активность мононуклеаров периферической крови (МНПК) здоровых доноров.

**Материалы и методы.** МНПК выделяли из периферической крови 20 здоровых доноров. В работе использованы 10-кратные разведения фитогемагглютинина (ФГА) (ПанЭко, Россия), и лектинов гороха (ЛГ), бобов (ЛБ) и различных сортов фасоли (ЛФ). ЛГ, ЛБ и ЛФ выделяли из плодов гороха методом аффинной хроматографии на сефадексе G-100. Клетки опухолевой линии K-562 (эритробластный лейкоз человека) и Colo (колоректальный рак человека) культивировали в среде RPMI-1640 с добавлением глутамина, 5% фетальной сыворотки плодов крупного рогатого скота и гетамидина. Для выявления цитотоксической активности клеток использовали МТТ-тест). Цитотоксическую активность МНПК определяли на линии K-562.

**Результаты.** ФГА и ЛГ, ЛБ, ЛФ не оказывают прямого цитопатогенного действия в концентрациях 0,1–10,0 мг/мл на клетки линии K-562 и Colo и МНПК. Однако инкубация МНПК с лектинами в диапазоне указанных выше концентраций вызывала значительное повышение их спонтанной цитотоксической активности по отношению к клеткам-мишеням K562 и Colo.

**Вывод.** Установлено, что лектины бобовых в концентрациях, не оказывающих непосредственного цитопатогенного действия на злокачественно трансформированные клетки, стимулируют спонтанную киллерную активность мононуклеарных клеток крови человека. Учитывая полученные данные, лектины бобовых могут рассматриваться как перспективный класс соединений для поиска новых лекарственных препаратов, обладающих иммуномодулирующей активностью.

А. В. Тришин<sup>1</sup>, Н. К. Ахматова<sup>2</sup>, Д. Н. Сухарев<sup>1</sup>,  
Ф. В. Доненко<sup>2</sup>, С. Г. Зайчикова<sup>1</sup>

### ВЛИЯНИЕ ЛЕКТИНОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ

<sup>1</sup>ММА им. И. М. Сеченова, Москва

<sup>2</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

**Введение.** К лектинам относятся белки, обладающие свойством обратимо и избирательно связывать углеводы, не вызывая их химического превращения. Публикации последних лет свидетельствуют о высоком содержании лектинов в семенах чины, гороха и некоторых других представителей рода бобовых.

Цель исследования. Изучение влияния гороха растительного происхождения на пролиферативную активность лимфоцитов периферической крови (МНПК) здоровых доноров.

**Материалы и методы.** МНПК выделяли по методу А. Воупт (1968) из стабилизированной периферической крови здоровых доноров. Жизнеспособность и функциональную активность лимфоцитов оценивали морфологическим методом – реакцией бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) традиционным способом (Н. Л. Самойлина, 1970). В работе использован диапазон концентраций от 5 до 20 мкг/мл фитогемагглютинина ФГА (ПанЭко, Россия), а также лектинов гороха (ЛГ) и бобов (ЛБ) и различных сортов фасоли (ЛФ). ЛГ, ЛБ и ЛФ выделяли из плодов гороха методом аффинной хроматографии на сефадексе G-100.

**Результаты.** При оценке пролиферативной активности морфологическим методом установлено, что процент содержания бластных форм при добавлении лектинов в диапазоне доз от 5,0 до 20, мкг/мл при 72-ч инкубации МНПК в несколько десятков раз превышал таковые в контрольных культурах. Это свидетельствует о том, что каждый из исследуемых лектинов проявлял собственный митогенный эффект. С увеличением дозировок ФГА постепенно увеличивалось

содержание бластных форм клеток в культуре, а также происходило закономерное возрастание индекса стимуляции (ИС). В диапазоне доз от 5,0 до 15,0 мкг/мл при инкубации МНК в присутствии ЛГ, ЛБ и ЛФ также увеличивалось содержание бластных клеток и индекс стимуляции аналогично возрастанию.

**Вывод.** Лектины растительного происхождения, выделенные из плодов гороха и бобов, в низких концентрациях оказывают сходное с ФГА стимулирующее действие на пролиферативную активность лимфоцитов человека. Лектины бобовых могут быть использованы для целей адъювантной иммунотерапии злокачественных новообразований в качестве индукторов активации лимфоцитов.

*И. И. Файнгольд<sup>1</sup>, Н. П. Коновалова<sup>1</sup>, Р. А. Котельникова<sup>1</sup>, Г. Н. Бозданов<sup>1</sup>, Е. С. Фрог<sup>1</sup>, Д. В. Мищенко<sup>1</sup>, Е. Н. Берсенева<sup>1</sup>, В. С. Романова<sup>2</sup>*

### АМИНОКИСЛОТЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ФУЛЛЕРЕНА C<sub>60</sub> – МОДИФИКАТОРЫ БИОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ ПРИ ЦИТОСТАТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ МЕТАСТАЗИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕЙ

<sup>1</sup>Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка

<sup>2</sup>Институт элементоорганического синтеза РАН, Москва

**Введение.** В мире уделяется большое внимание проблеме создания фармакологически активных соединений на основе фуллеренов, изучению физико-химических механизмов их биологического действия. Широкий спектр биологической активности производных фуллерена обусловлен уникальной структурой углеродного сфероида, его способностью переводить кислород в синглетное состояние, проявлять мембранотропные и антирадикальные свойства, противовирусную активность и цитотоксическое действие. Эти свойства являются основой для создания нового класса перспективных лекарственных препаратов.

**Цель исследования.** Изучение влияния аминокислотных производных фуллерена C<sub>60</sub> как модификаторов биологических реакций при терапии метастазирующих опухолей.

**Материал и методы.** В работе использовали АПФ: C<sub>60</sub>-L-ProNO<sub>2</sub>, C<sub>60</sub>-L-Pro(NO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>. В качестве цитостатика применяли противоопухолевый антибиотик адриамицин (АДР). Препараты вводили внутривенно в дозе 60 мг/кг, 50 мг/кг и 1 мг/кг соответственно для C<sub>60</sub>-L-ProNO<sub>2</sub>, C<sub>60</sub>-L-Pro(NO<sub>2</sub>)<sub>2</sub> и АДР. Антиметастатическая активность АПФ и их комбинаций с АДР исследовалась на модели метастазирующей солидной опухоли – карциноме Льюис у мышей линии BDF<sub>1</sub>. Противоопухолевый эффект оценивали по индексу ингибирования метастазов (ИИМ, %).

**Результаты.** Выявлено, что АПФ проникают через липидный барьер биологических мембран, являются эффективными ингибиторами перекисного окисления липидов.

Установлена зависимость антиметастатической активности производных фуллерена от количества присоединенных NO<sub>2</sub> – групп. Показано, что C<sub>60</sub>-L-Pro(NO<sub>2</sub>)<sub>2</sub> в комбинации с АДР проявил наибольший терапевтический эффект – ИИМ равен 40%, в то время, как при действии C<sub>60</sub>-L-Pro NO<sub>2</sub> индекс ингибирования составил 28 %. При индивидуальной терапии адриамицином ИИМ соответствует 18 %.

**Выводы.** Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований производных фуллерена C<sub>60</sub> как потенциальных противоопухолевых препаратов.

*Исследования поддержаны грантами РФФИ.*

*Т. А. Федотчева<sup>1</sup>, З. С. Смирнова<sup>2</sup>, Г. С. Гриненко<sup>3</sup>, Л. Е. Голубовская<sup>4</sup>, В. М. Ржевников<sup>4</sup>, А. В. Семейкин<sup>1</sup>, Н. Л. Шимановский<sup>1</sup>*

### ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ НОВОГО ГЕСТАГЕНА БУТЕРОЛА

<sup>1</sup>Российский государственный медицинский университет, Москва

<sup>2</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

<sup>3</sup>ЦХЛС-ВНИИХФИ, Москва

<sup>4</sup>ГУ ЭНЦ РАМН, Москва

**Введение.** Гестагены нашли применение в онкологии при паллиативном лечении рецидивирующего и метастатического рака эндометрия или рака почки, а также при паллиативном лечении некоторых гормоночувствительных опухолей, включая распространенные фор-

мы рака молочной железы и карциномы предстательной железы. Новый гестаген Бутерол, в отличие от большинства гестагенных препаратов, не содержит в структуре Δ<sup>4</sup>-3-кето-группировку и не обладает побочным андрогенным действием, вызывающим вирилизацию у женщин.

**Цель исследования.** Изучение противоопухолевой и хемосенсибилизирующей активностей Бутерола.

**Материалы и методы.** Для оценки противоопухолевой активности Бутерола использовали перевиваемый рак шейки матки РШМ-5 мышей СВА, чувствительный к прогестинам при ортотопической перевивке; для оценки хемосенсибилизирующей активности препарата сравнивали противоопухолевую активность винкристина при монотерапии с терапевтическим эффектом винкристина в комбинации с Бутеролом на мышах-самках линии DBA/2 с лимфолектозом Р-388, резистентным к винкристину.

**Результаты.** Бутерол при пероральном применении обладает противоопухолевой активностью, превосходящей эффект известного противоопухолевого гестагенного препарата Провера. Бутерол в дозе 1 мг/мышь тормозит рост опухоли РШМ-5 при ортотопической перевивке на 73 %, тогда как ацетат медроксипрогестерона, представляющей собой субстанцию препарата Провера, – на 55% (p<0,05).

Исследуемый препарат в дозе 50 мг/кг проявляет хемосенсибилизирующее действие, повышая цитостатический эффект винкристина на 16 % (p<0,001) и ингибируя в комбинации с винкристином рост Р-388 на 53 %.

**Выводы.** Бутерол обладает выраженным противоопухолевым действием и хемосенсибилизирующей активностью. Он может быть рекомендован для дальнейшего исследования в качестве перспективного противоопухолевого средства.

### М. Я. Шапкина, А. В. Сергеев, Г. И. Кабацкая, М. В. Максимова, И. Р. Просалкова, Т. В. Силаева РАЗРАБОТКА ПРЕПАРАТОВ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ ЧАГИ

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

**Введение.** Чага или березовый гриб – популярное средство профилактики и лечения желудочно-кишечных и других заболеваний, в т.ч. рака. Чага содержит целый спектр важных биологически активных веществ (БАВ): полифенольный хромогенный гуминоподобный комплекс (ХК) типа меланина (более 10 %), флавоноиды и другие полифенольные соединения, полисахариды, макро- и микроэлементы (до 15 %), лектины и пр. Уникальный химический состав чаги обуславливает широкий спектр фармакологической активности. Чага обладает антиоксидантными и иммуномодулирующими свойствами, проявляет антипротекторную активность, оказывает болеутоляющее и противовоспалительное действие, поэтому может применяться как самостоятельно, так и в комплексе с другими средствами профилактики и терапии. Известны 2 фармакопейных препарата чаги: бефунгин (полугустой экстракт с добавлением солей кобальта) и настойка чаги во флаконах, но они характеризуются неоднозначностью действия.

**Цель исследования.** Разработать новые дозированные, удобные для применения, препараты на основе сухого экстракта чаги (СЭЧ).

**Материалы и методы.** В качестве сырья использовали березовый гриб, соответствующий требованиям ГФ XI, который экстрагировали водой. СЭЧ получали методом распылительной сушки или лиофилизацией с использованием традиционного фармооборудования.

**Результаты.** Процесс экстракции БАВ из гриба оптимизировали в зависимости от степени измельчения, температурных и временных параметров. Разработаны «щадящие» условия получения СЭЧ с максимально возможным сохранением лабильных БАВ. Масштабирование технологического процесса (ТП) проводили в условиях, приближенных к промышленным. Оптимизация ТП позволила получить СЭЧ с высоким выходом (25–35 % в расчете на исходное сырье) и содержанием ХК 40–60 %. Разработаны критерии и параметры стандартизации СЭЧ. На основе стандартизованного СЭЧ созданы 2 препарата чаговит: в форме твердых желатиновых капсул (ТЖК) и растворимого фитозлискира (РФЭ) в разовых пакетах или банках с дозатором. Разработана и утверждена многоступенчатая схема производства каждой формы применительно к промышленным усло-

виям и нормативно-техническая документация. ТЖК и РФЭ содержат витамины С и группы В в дозах, удовлетворяющих суточные потребности в них. РФЭ дополнительно содержит экстракты солодки и шиповника. Лечебно-профилактическая эффективность препаратов подтверждена экспериментально и клинически в группах риска.

**Выводы.** В настоящее время чаговит выпускается отечественной промышленностью. (Свид. Гос. Рег. № 77.99.23,3 У 24.26.06 от 23.03.2006г.).

*Н. К. Юркитович<sup>1</sup>, С. А. Беляев<sup>1</sup>, Н. В. Голуб<sup>1</sup>,  
Т. Л. Юркитович<sup>1</sup>, Ф. Н. Капуцкий<sup>1</sup>, Д. П. Веевник<sup>2</sup>*  
**ПОЛУЧЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ  
ТЕМОЗОЛОМИДА НА ОСНОВЕ  
ВЫСОКОЗАМЕЩЕННОГО  
ФОСФАТА ДЕКСТРАНА**

<sup>1</sup>НИИ физико-химических проблем Белгосуниверситета, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>ЛПУ «9 клиническая больница», Минск, Беларусь

Биорассасывающийся полимер – темозоломид, представляющей собой гидрогель для локальной (местной) химиотерапии злокачественных образований головного мозга, обеспечивающей стабильность и эффект возрастания терапевтического действия темозоломида, длительное и равномерное высвобождение активного вещества из гидрогеля.

Благодаря удачному сочетанию физико-химических (наличие ионогенных групп, высокая степень набухания) и медико-биологических свойств (биосовместимость, нетоксичность, способность рассасываться в тканях организма без воспалительной реакции, относительная устойчивость в биологических средах) определенный интерес вызывает использование в качестве биорассасывающихся полимеров-носителей модифицированных полисахаридов. Одним из новых и перспективных полисахаридов является высокозамещенный фосфат декстрана (ВЗФД), представляющий собой ограниченно-набухающий гель.

В работе были изучены закономерности фосфорилирования декстрана в системе  $H_3PO_4 / P_2O_5 / V_2O_5 / CCl_4$ , 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, а также от времени проведения реакции. Изучено влияние количества фосфорнокислых групп ВЗФД на степени набухания. Разработана методика введения темозоломида (Temodal, Shering-Plough) в ВЗФД. Создана лекарственная форма ВЗФД – темозоломид.

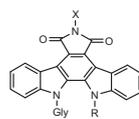
Доклинические исследования выявили пролонгированный дозозависимый цитотоксический эффект полимерной формы темозоломида в течение 24 ч на глиальные клетки в культуре, выражающийся в ингибировании пролиферации клеток (в дозах: 375 мкг/мл, 137,5 мкг/мл) и цитодеструктивном действии препарата на клетки глиомы (использовались большие дозы препарата: 1500 мкг/мл, 750 мкг/мл). Максимально токсической дозы полимерной формы темозоломида (содержание препарата – 3 мг на 1 мл геля) не выявлено, что предполагает отсутствие значимого общетоксического действия препарата на головной мозг и организм в целом.

*Н. П. Яворская, И. С. Голубева, О. В. Горюнова*  
**О ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ  
НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ  
N-РИБОЗИДА ИНДОЛО[2,3-А]- ПИРРОЛО[3,4-  
С]КАРБАЗОЛА**

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

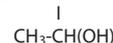
**Задачи исследования.** Производные индоло[2,3-а]карбазолов представляют класс соединений широкого спектра биологического действия. В зависимости от конфигурации гетероцикла, в котором индолокарбазол является частью 5- или 6-членной гетероароматической системы, преобладает антимикробная, фунгицидная, противовоспалительная активность. Наиболее выраженным противоопухолевым действием обладают индоло[2,3-а]пирроло[3,4-с]карбазолы, гликозилированные по атому азота индола (I). На молекулярные механизмы противоопухолевого эффекта влияет и природа других заместителей в агликоне. Данная работа посвящена изучению проти-

воопухолевой активности нового вида производных индоло[2,3-а]пирроло[3,4-с]карбазола на примере рибозидов (II), в котором имидный атом азота агликона является одновременно азотом α-аминогруппы L-треонина и его солей: аммонийной (III) и с D-глюкозаминном (IV).



(I) Gly = углеводный остаток; R, X = заместители.

(II) Gly = рибозид; R =  $-CH_3$ ; X =  $-CH_2COOH$



**Материалы и методы.** Сравнительное исследование рибозидов L-треонина индоло[2,3-а]пирроло[3,4-с]карбазола (II) и его солей аммонийной (III) и с D-глюкозаминном (IV) проводили на перевиваемых солидных моделях опухолевого роста мышей – раке шейки матки РШМ-5 и меланоме В16. Лечение начинали через 48 ч после прививки. Растворы препаратов готовили *ex tempore* и вводили внутривенно. Критериями эффективности служили торможение роста опухоли (ТРО, %) и увеличение продолжительности жизни опытных животных (УПЖ, %) по сравнению с контролем.

**Результаты.** Все исследуемые соединения, введенные в терапевтической дозе 100 мг/кг в течение 5 дней с интервалом 24 ч, вызывают на РШМ-5 умеренный противоопухолевый эффект (ТРО 68–70 %), который сохраняется в пределах значений 55–60 % на 8-й день наблюдения для соединений (II, III) и до 12-го дня для соединения (IV), для которого УПЖ составило 35 %. На меланоме В16 наблюдается только непосредственный эффект после окончания лечения на уровне 70 % ТРО.

**Выводы.** Полученные результаты свидетельствуют о перспективности поиска новых противоопухолевых агентов в ряду аминокислотных производных N-гликозидов индоло[2,3-а]пирроло[3,4-с]карбазола.

*Н. П. Яворская<sup>1</sup>, И. С. Голубева<sup>1</sup>, Д. В. Овчинников<sup>2</sup>,  
Е. Н. Глибин<sup>1</sup>*

**ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СВОЙСТВА  
ПРОИЗВОДНЫХ КСАНТОНОВ  
С ФРАГМЕНТАМИ КРАУН СОЕДИНЕНИЙ**

<sup>1</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

<sup>2</sup>Государственный технологический институт, Санкт-Петербург

**Цель исследования.** Выяснение влияния на противоопухолевую активность взаимного расположения катионоидного центра аза-15-краун 5 и интеркалирующих гетероциклов 9-ксантон-4-карбоновых кислот, так как природа катионоидного центра и его расположение относительно интеркалирующей структуры являются факторами, существенно влияющими как на противоопухолевые свойства, так и на токсичность.

**Задачи исследования.** Сравнительное изучение противоопухолевой активности 9-ксантон-4-карбоновых кислот, содержащих в амидных группах фрагменты аза-15-краун-5, разобращенные с хромофором спейсерами различной длины (глицин, бета аланин, гамма-аминомасляная кислота, эпислон-аминокапроновая кислота).

**Материалы и методы:** Исследования выполнены на перевиваемых солидных моделях опухолевого роста мышей – аденокарциноме молочной железы Ca 755, раке шейки матки РШМ 5 и раке легкого Льюис (LLC) по стандартным методикам, принятым в РОНЦ. Лечение начинали через 48 ч после перевивки. Препараты готовили *ex tempore*. Критерием эффективности служили торможение роста опухоли (ТРО) и увеличение продолжительности жизни (УПЖ) мышей по сравнению с контролем.

**Результаты.** Изучаемые соединения в терапевтической дозе 50 мг/кг при 5-кратном ежедневном режиме проявляли на Ca 755 небольшую противоопухолевую активность непосредственно после окончания лечения, в пределах 71–73, 69–7, 68–78, 58–86 % ТРО соответственно.

На модели РШМ 5 противоопухолевая активность после окончания лечения – в пределах 70–84 % ТРО, независимо от удаленности

катионидного центра, с сохранением эффекта в пределах 40–65 % ТРО на 14-й день после окончания лечения.

На раке легкого LLC пограничный эффект (ТРО 52–68 %) сохраняется до 8-го дня в период наблюдения.

**Выводы.** 1. Удаление краун-фрагмента аза-15-краун 5 от хромовой части молекулы (ксантона) остатками аминокислот не влияет на противоопухолевую активность и токсичность. 2. Производные 9-ксантон-4-карбоновой кислоты с аза-15-краун 5 фрагментом не показали преимущества перед производными с бензо-краун фрагментами.

С. П. Ярмоненко<sup>1</sup>, Н. Кухина<sup>2</sup>, В. В. Мещерикова<sup>1</sup>,  
А. А. Вайнсон<sup>1</sup>

### БАКТЕРИАЛЬНЫЙ ПРЕПАРАТ ДН-1 КАК ИЗБИРАТЕЛЬНЫЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ РАДИОМОДИФИКАТОР

<sup>1</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

<sup>2</sup>Клиника «ЛЕНОМ», Ришон Ле-Цион, Израиль

Изучено радиомодифицирующее действие нетоксичного препарата ДН-1 (гомогената галобактерий, способных расти при высоком содержании соли, например, в Мертвом море) в экспериментах на культурах клеток карциномы Эрлиха линии ELD, карциномы легких Льюиса, меланомы В16 и нормальных клетках (полученных из эпителия кишечника эмбриона человека), а также на опухолях мышей, полученных из этих клеток.

В опытах *in vitro* показано, что при гамма-облучении клеток в дозе 7,5 Гр предварительное (за полчаса до облучения) добавление ДН-1 в концентрации 0,3–10 % гомогената избирательно усиливает лучевое поражение только опухолевых клеток. При этом гибель клеток ELD увеличивалась в 1,7 раза, клеток карциномы Льюиса – в 1,5 раза и клеток меланомы В16 – в 1,2 раза, в то время, как лучевое поражение нормальных эпителиальных клеток не усиливалось.

В экспериментах *in vivo* растущие в мышце голени опухоли подвергались локальному гамма-облучению в дозах 20–25 Гр через 7–9 дней после прививки, когда диаметр голени достигал 8–10 мм. Оценивали разные режимы введения ДН-1. Чаще всего препарат начинали вводить перорально или внутривенно через 1–3 сут после прививки опухоли и продолжали введение 5 раз в нед в течение 3–4 нед. В части экспериментов оценивали эффект курсового введения ДН-1 после облучения, а также его 1-кратного применения за 1 ч перед облучением.

В результате, как и в опытах *in vitro*, установлено избирательное усиление вызванного облучением торможения роста опухолей при введении животным ДН-1, которое приводило к возрастанию продолжительности их жизни. Лучевые реакции кожи в зоне облучения при этом не менялись.

Полученные данные об избирательном усилении радиационного поражения экспериментальных опухолей животных с помощью изу-

ченного бактериального препарата ДН-1 свидетельствуют о целесообразности изучения возможности его использования в лиофилизованной форме и в случае сохранения эффективности в приготовлении его лекарственной формы. Такие исследования в настоящее время проводятся с участием специалистов соответствующего профиля.

И. В. Ярцева, Л. Г. Гатинская,  
Н. А. Дмитричева, Е. В. Игнатьева,  
Н. А. Машалова, Б. С. Кикоть

### СТАНДАРТИЗАЦИЯ ТИОСЕНСА

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

Тиосенс – комплексное соединение алюминия из класса тифталоцианинов, полученное в ФГУП «ГНЦ «НИОПИК» и предназначенное для фотодинамической терапии опухолей. Задача настоящей работы – химико-фармацевтическая стандартизация тиосенса.

Тиосенс представляет собой кристаллический порошок темно-зеленого цвета, практически не растворимый в воде и спирте этиловом, растворимый в хлороформе, диметилсульфоксиде и диметилформамиде. Наличие порфиринового кольца в его молекуле подтверждается характерным электронным спектром поглощения в УФ- и видимой области. Тиосенс имеет также характеристический ИК-спектр. Присутствие алюминия в препарате подтверждается качественной реакцией с ализарином.  $E_{\text{тем}}^{1\%}$  0,003% хлорформно-спиртовых растворов препарата, измеренный в наиболее интенсивном максимуме при  $717 \pm 4$  нм, находится в интервале 2200–2300. По данным ТСХ тиосенс не содержит специфических примесей, за исключением незначительных количеств одного из изомеров препарата. Показатель «потери в массе при высушивании», измеренный при 125 °С, находится в интервале 0,2–1,8. Методом газо-жидкостной хроматографии показано, что тиосенс практически не содержит органических растворителей: хлороформа, гексана и толуола, используемых в его синтезе. Он не содержит также неорганических примесей, таких, как хлориды, сульфаты, тяжелые металлы, присутствие которых в препарате связано обычно со способом его получения.

Для прямого количественного определения тиосенса использован дающий надежные результаты метод, основанный на определении серы сожжением образца в токе кислорода по Шенигеру. Однако в случае тиосенса этот метод не специфичен в отношении исходного вещества – тетра-3-фенилтифталоцианина алюминия хлорида. Для контроля за содержанием этого вещества вводится показатель «Содержание хлора», определяемый также сожжением образца в токе кислорода. Содержание основного действующего вещества в пересчете на высушенное вещество для всех проанализированных серий препарата составляло не менее 98,0 % при содержании хлора не более 0,4 %.

Работа поддержана Правительством г. Москвы. Авторы благодарят Г. Н. Ворожцова, Е. А. Лукьянца и В. М. Деркачеву за сотрудничество и предоставленные для исследования образцы тиосенса.

# БИОТЕРАПИЯ

*Б. С. Аманджолов, С. М. Ситдикова, И. М. Лученко,  
М. В. Киселевский, Ф. В. Доненко*

## **ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСА БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ МЫШЕЙ ДВА/2 С МЕЛАНОМОЙ КЛАУДМАНА S 91**

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

В предыдущих исследованиях на мышцах-самцах линии С<sub>57</sub>Bl/6 с внутрибрюшинно и внутримышечно трансплантированной карциномой Эрлиха было показано, что введение гемоглобинсодержащего комплекса белков сыворотки крови, выделенного у животных с опухолью приводит к полной регрессии опухоли. Вылеченные животные были устойчивы к повторной трансплантации карциномы Эрлиха даже при увеличении прививочной дозы до 40×10<sup>6</sup> клеток/мышь. Наблюдение за животными продолжалось в течение года, и на вскрытии не было обнаружено никаких признаков опухолевого процесса. Учитывая, что карцинома Эрлиха не является сингенной, в последующих исследованиях было изучено влияние комплекса белков сыворотки крови на индукцию устойчивости мышей к росту сингенной опухоли. Целью настоящего исследования явилось изучение влияния комплекса белков сыворотки крови мышей с трансплантированной меланомой Клаудмана S 91 на индукцию устойчивости мышей к росту опухоли.

Мышам линии ДВА/2 был введен комплекс белков в используемых ранее режимах. Контрольная группа животных получала адекватные объемы раствора альбумина (1 мг белка/мышь). Количество введенных составляло от 2 до 5. В каждой группе было использовано по 6 животных. Меланому Клаудмана трансплантировали подкожно через 4 нед после последнего введения комплекса белков. В контрольной группе животных опухоль развилась в 100 % случаев, гибель мышей отмечена в сроки от 1,5 до 2 мес. В экспериментальных группах развитие опухоли отмечено в 0–30 % случаев. Наблюдение за экспериментальными животными продолжалось еще 3 нед, после чего животным с неразвившейся опухолью была проведена повторная перевивка меланомы. В контрольной группе опухоль была трансплантирована интактным мышам. После повторной трансплантации мышам меланомы Клаудмана развитие опухоли было отмечено у 30 % животных, и опухоли появились на 2–3 нед позднее по сравнению с контролем. Почти половина животных (40 %) от общего количества используемых в эксперименте оказались резистентными к обеим трансплантациям опухоли.

Предполагается, что в гибели опухолевых клеток после введения комплекса белков сыворотки крови как в случае несингенной карциномы Эрлиха, так и в сингенной меланоме Клаудмана участвуют регуляторные Т-лимфоциты. В дальнейших исследованиях планируется проведение идентификации белков, входящих в состав комплекса.

*Г. С. Бадмаева, В. О. Дагбаева, А. О. Арбошкин,  
Н. Д. Ванданова, И. А. Шагдурова, Д. В. Аюшина,  
Э. С. Красник, А. П. Перинов*

## **ПРИМЕНЕНИЕ ЭПРЕКСА В ЛЕЧЕНИИ ОНКОБОЛЬНЫХ**

*Бурятский республиканский онкологический диспансер*

Большой удельный вес в терапии больных раком различных локализаций принадлежит консервативным методам химиотерапии и лучевому лечению. При химиотерапии и лучевом лечении часто развивается анемия. При этом уменьшение содержания гемоглобина существенно снижает качество жизни больных: развиваются общая слабость, одышка, повышенная утомляемость, сонливость. Развитие анемии ведет к снижению эффективности химио- и лучевой терапии.

С 2006 г. в Бурятском республиканском онкологическом диспансере для лечения анемии у больных злокачественными новообразованиями стали применять эпрекс (7 позтин-альфа, компания Янссен-Силаг).

Применяется эпрекс в стандартных дозах по 10.000 МЕ п/к 3 раза в нед под контролем анализов крови. Его применение приводило к улучшению общего физического состояния. Ни одному больному в

процессе терапии эпрексом не понадобилось переливания фильтрованной эритроцитарной массы. В зоне инъекции местных реакций (отека, гиперемии кожи) не отмечалось ни у одного пациента.

Эпрекс хорошо переносится, удобен в применении, может применяться самым больным в амбулаторных условиях. Включение препарата эпрекс в Перечень льготных лекарственных средств по программе ДЛО очень важно, так как позволяет шире использовать его в лечении онкобольных.

*А. Е. Бережной<sup>1</sup>, И. Р. Закеева<sup>1</sup>, А. В. Кибардин<sup>1</sup>,  
А. Д. Чернышева<sup>1</sup>, В. М. Моисеенко<sup>2</sup>, А. О. Данилов<sup>2</sup>,  
И. Н. Михайлова<sup>3</sup>, А. В. Данилова<sup>2</sup>, Л. В. Демидов<sup>3</sup>,  
А. Ю. Барышников<sup>3</sup>, Н. В. Гнучев<sup>1</sup>,  
Г. П. Георгиев<sup>1</sup>, С. С. Ларин<sup>1</sup>*

## **ВЫХОД МОЛЕКУЛЫ HLA-E НА ПОВЕРХНОСТЬ КЛЕТОК ПОД ДЕЙСТВИЕМ INF-γ ЗАЩИЩАЕТ КЛЕТКИ МЕЛАНОМЫ ЧЕЛОВЕКА ОТ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НК-КЛЕТОК**

*<sup>1</sup>Институт биологии гена РАН, Москва*

*<sup>2</sup>ГУН НИИ онкологии им. проф. Н. Н. Петрова Росздрава,  
Санкт-Петербург*

*<sup>3</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва*

В последнее время различные методы иммунотерапии опухолей не дают ожидаемого результата при внедрении в клиническую практику. Одним из объяснений является возможное ускользание опухолевых клеток от иммунного надзора или индукция толерантности опухолеспецифических лимфоцитов трансформированными клетками. Описан целый ряд факторов, продуцируемых опухолью и блокирующих противоопухолевый иммунный ответ. Считается, что связывание ингибиторных рецепторов на поверхности лимфоцитов с соответствующими лигандами, представленными на поверхности клеток-мишеней, может подавлять эффекторные функции лимфоцитов. Для проверки этой гипотезы в настоящей работе была проанализирована экспрессия молекулы HLA-E, которая является лигандом гетеромерных ингибиторных рецепторов лимфоцитов лектинового семейства – CD94/NKG2A,B.

С помощью ПЦР в реальном времени, а также иммуноблот-анализа в работе была проанализирована экспрессия молекулы HLA-E под действием INF-γ в ряде меланомных клеточных линий, полученных из биопсийного материала от пациентов с IV стадией меланомы. Была обнаружена дозозависимая индукция экспрессии молекулы HLA-E в клетках меланомы. С помощью метода проточной цитометрии было показано, что выход молекулы HLA-E на клеточную мембрану зависит от присутствия в культуральной среде INF-γ. С использованием цитотоксических НК-клеток линии NKL (KIR<sup>+</sup>CD94/NKG2A<sup>+</sup>) было показано, что присутствие на поверхности клеток меланомы молекулы HLA-E приводит к защите последних от лизиса.

Таким образом, показан новый INF-γ индуцированный HLA-E, опосредованный механизм ускользания опухолевых клеток от иммунного надзора цитотоксическими НК-клетками.

## *А. А. Борунова, Г. З. Чкадуа, Т. Н. Заботина, З. Г. Кадагидзе, И. Н. Михайлова, Л. В. Демидов* **СУБПОПУЛЯЦИОННАЯ СТРУКТУРА ЭФФЕКТОРНЫХ ЛИМФОЦИТОВ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ ПРИ ВАКЦИНОТЕРАПИИ**

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

**Цель исследования.** Изучить субпопуляционную структуру эффекторных перфорин-содержащих лимфоцитов у онкологических больных на фоне вакцинотерапии дендритными клетками, нагруженными опухолевым лизатом.

**Материалы и методы.** Иммунофенотип лимфоцитов периферической крови исследовали в реакции иммунофлюоресценции с ком-

мерческими МКА к CD4, CD8, CD16-антигенам и перфорину, конъюгированными FITC, PE и PE-Cy5, с последующим анализом на точном цитофлюориметре FACScan (Becton Dickinson). В исследовании были включены больные меланомой, у которых до начала вакцинотерапии не было клинических признаков заболевания (группы №1 (n=7) и №2 (n=4)), больные диссеминированной меланомой (группы №3 (n=7) и №4 (n=14)), получившие 6–15 вакцинаций, и доноры (n=15). До начала вакцинотерапии у больных в группах №1 и №3 значение иммунорегуляторного индекса (CD4/CD8) было в пределах нормы (N=1,75±0,4), и на фоне лечения наблюдалась стабилизация процесса. У больных в группах №2 и №4 – снижено и в процессе вакцинотерапии наблюдалось прогрессирование основного заболевания.

**Результаты.** При исследовании перфорин-позитивных лимфоцитов было выявлено, что у всех больных на фоне лечения эта популяция увеличивается от 10 % до 22 % вне зависимости от клинического течения заболевания (N=9–12 %). Популяция CD8<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, экспрессирующих перфорин у больных 1-й и 3-й групп, на фоне лечения увеличивалась от 7 % до 15 % (N=7,1±2,2 %), а CD16<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> NK клеток оставалась в пределах нормы – 8–10 %. У больных 2-й и 4-й групп, напротив, количество перфорин<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и NK-клеток уменьшалось до 2–3 %. Более того, у этих больных была выявлена популяция CD16<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> лимфоцитов, содержащих перфорин, которая на фоне вакцинотерапии увеличивалась до 17–20 %. Следует отметить, что у больных 2-й группы эта популяция появляется после 6 введения вакцины, тогда как у больных 4-й группы она выявляется еще до начала лечения. У больных 1-й и 3-й групп количество CD16<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> перфорин<sup>+</sup>-клеток оставалось в пределах нормы как до начала лечения, так и в процессе терапии (N=0,6±0,1 %).

**Выводы.** Было выявлено различие в субпопуляционной структуре эффекторных лимфоцитов у больных с различным клиническим течением заболевания на фоне вакцинотерапии. Увеличение перфорин<sup>+</sup> популяции клеток у прогрессирующих больных происходило преимущественно за счет CD16<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> популяции клеток, а у больных при стабилизации – за счет CD8<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> Т-лимфоцитов и CD16<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> NK-клеток.

### Е. В. Володина, А. С. Островская, А. Е. Бережной, С. С. Ларин ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЦЕЛЬНОКЛЕТОЧНЫХ ГЕННОИНЖЕНЕРНЫХ ВАКЦИН НА ГУМОРАЛЬНЫЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ИММУНИТЕТ

*Институт биологии гена РАН, Москва*

**Введение.** Специфические иммуноглобулины – один из ключевых факторов защиты организма от инфекционных агентов, в то время как роль антител в противоопухолевом иммунитете остается не ясной. Блокирующие антитела способны защищать опухолевые клетки от действия опухолеспецифических Т-лимфоцитов, однако существуют примеры иммуноглобулинов с противоопухолевым действием. Ранее в нашей лаборатории была разработана генно-инженерная противоопухолевая вакцина на основе опухолевых клеток, секретирующих ГМ-КСФ, и вакцина на основе опухолевых клеток, секретирующих Таг-7. Была показана эффективность их раздельного и совместного применения.

**Цель исследования.** Используя данные вакцины в качестве средства модулирования противоопухолевого иммунитета, мы проанализировали наличие иммуноглобулинов в сыворотке крови неиммунных животных, а также животных, иммунизированных разными вакцинопрепаратами.

**Материалы и методы.** Мышей линии C<sub>57</sub>Bl/6 иммунизировали 10<sup>6</sup> инактивированных клеток, секретирующих ГМ-КСФ, Таг-7 либо смесью клеток. Через 7 дней у животных забирали образцы крови, выделяли сыворотку, которую в различных разведениях инкубировали с клетками линии мышины меланомы В16-F10. Специфическое окрашивание детектировали при помощи FACS-анализа после инкубации со вторичными антителами (конъюгированные с FITC поликлональные козлиные антитела против иммуноглобулинов мыши).

**Результаты.** Показано, что в сыворотке неиммунизированных животных в титре 1:256 обнаруживались иммуноглобулины, способные специфически распознавать опухолевые клетки (10 % клеточной популяции окрашивалось с высокой интенсивностью). Применение

вакцинации инактивированными клетками, секретирующими ГМ-КСФ и Таг-7, снижало количество антител, распознающих клетки линии В16-F10. В то же время комбинированная вакцинация смесью клеток секретирующих различные цитокины стимулировала образование антител, которые с низкой интенсивностью окрашивали всю клеточную популяцию.

**Выводы.** Предположительно, антитела детектируемые у неиммунизированных животных способствуют формированию опухолей. Вакцинация животных индуцирует исчезновение антител с проопухолевым действием и в некоторых случаях противоопухолевых антител.

*Д. В. Гольдштейн<sup>1,2</sup>*

### БЕЗОПАСНОСТЬ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ: ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ КУЛЬТУР СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

*<sup>1</sup>НП «Институт стволовой клетки и клеточных технологий», Москва  
<sup>2</sup>ЗАО «РеМетЭкс», Москва*

Для применения клеточных технологий в широкой медицинской практике требуется создание методической платформы биобезопасности клеточных трансплантатов и тканеинженерных конструкций. При культивировании клеток *in vitro* отсутствует контроль со стороны иммунной системы, что при длительном культивировании может приводить к накоплению трансформированных клеток и в конечном итоге к малигнизации культуры. Показана спонтанная трансформация стволовых клеток при культивировании, сопровождающаяся хромосомной нестабильностью, что свидетельствует о необходимости цитогенетического контроля клеточных трансплантатов. Для обеспечения безопасности клеточной терапии необходимо изучение механизмов и закономерностей хромосомной изменчивости стволовых клеток в процессах изолирования, культивирования и криопрезервации, онкогенного и туморогенного потенциала клеточных трансплантатов.

Методика приготовления цитогенетических препаратов из культур стволовых клеток разработана совместно с лабораторией мутагенеза ГУ МГНЦ РАМН («Клеточные технологии в биологии и медицине», 2007, №1). Исследовали культуры мультипотентных стромальных клеток (МСК), полученных из жировой ткани по стандартной методике. Хромосомная изменчивость МСК выражалась в виде нестабильных хромосомных aberrаций, транслокаций хромосом и анеуплоидий. Частота хромосомных aberrаций в исследованных культурах на ранних пассажах соответствует верхней границе нормы для культур лимфоцитов периферической крови. Доля aberrантных клеток варьирует в культурах разных индивидов от 1,5 % до 5,95 %. В 2 культурах клеток на 11–14-м пассажах выявлены клоны с измененным кариотипом. Показано, что при длительном культивировании имеет место селективное размножение клеток с аномальным кариотипом. Для безопасной клеточной терапии необходимо использовать протоколы культивирования, оказывающие минимальное воздействие на хромосомную изменчивость клеточных культур.

*С. Г. Дониня*

### НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ ВО ВРЕМЯ ТЕРАПИИ ИММУНОМОДУЛЯТОРАМИ RIGVIR И LARIFANS

*Латвийский онкологический центр, Рига.*

**Задачи исследования.** Определить влияние иммуномодуляторов вирусного происхождения RIGVIR и LARIFANS на количественные показатели клеточного иммунитета онкологических больных.

**Материалы и методы.** Препараты RIGVIR и LARIFANS – иммунопрепараты с противоопухолевой активностью, зарегистрированные в Латвии и с 2005 г.

В амбулаторных условиях 23 больным после экцизии меланомы кожи вводили RIGVIR внутримышечно по индивидуальной схеме в течение 12 мес с октября 2005 г. 27 больным с различными солидными опухолями вводили подкожно LARIFANS в комплексной терапии по определенной схеме курсовыми дозами.

Кроме полного анализа крови и серологических маркеров в периферической крови определяли CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> и CD95<sup>+</sup>-клетки в процессе динамического наблюдения через 3, 6 и 12 мес во время терапии иммуномодуляторами.

**Результаты.** В период лечения *RIGVIR* у больных меланомой увеличилось количество лимфоцитов в  $1 \text{ мм}^3$  крови, в том числе  $\text{CD19}^+$  и  $\text{CD38}^+$ -клеток, и появилась тенденция к увеличению числа  $\text{CD8}^+$ -клеток.

У больных, получивших *LARIFANS*, наблюдали значительное увеличение числа  $\text{CD16}^+$  и  $\text{CD38}^+$ -клеток и увеличение общего количества лимфоцитов в  $1 \text{ мм}^3$  крови. Изменения количества иммунокомпетентных клеток отмечались через 3 мес после начала терапии и сохранились в дальнейшем.

Побочных эффектов в период лечения не наблюдали за исключением 2 случаев субфебрилитета в течении 24 ч после инъекции *LARIFANS*.

**Выводы.** Наши наблюдения по применению препаратов *RIGVIR* и *LARIFANS* в комплексном лечении онкологических больных показали их положительное влияние на количественные параметры клеточного иммунитета, в особенности на эффекторное звено. Препараты не вызвали неблагоприятных побочных эффектов во время лечения.

П. К. Иванов<sup>1</sup>, Е. Ф. Чмутин<sup>1</sup>, Д. В. Перлин<sup>2</sup>,  
А. С. Сокольский<sup>3</sup>, А. С. Гриневич<sup>1</sup>,  
Н. В. Голубцова<sup>1</sup>, А. Ю. Барышников<sup>1</sup>

#### АТЭМОНАТ: ОТ ЭКСПЕРИМЕНТА К КЛИНИКЕ

<sup>1</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

<sup>2</sup>НИИ Урологии МЗиСР РФ, Москва

<sup>3</sup>Городская клиническая больница № 7, Москва

Препарат Атэмонат представляет собой лекарственную форму мышиных моноклональных антител IСO-90 к антигену CD3 Т-лимфоцитов человека, полученных в РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН по гибридомной технологии. Связывание антител с Т-лимфоцитами приводит к быстрому и почти полному удалению Т-лимфоцитов из периферической крови, благодаря чему этот препарат может использоваться для купирования реакции отторжения трансплантата, в развитии которой Т-лимфоциты играют активную роль. В НИИ ЭДиТО РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН был проведен комплекс предклинических исследований, которые показали идентичность или превосходство физико-химических, иммунологических, фармакологических и токсикологических свойств Атэмоната по сравнению с препаратом Ортоклон ОКТ-3 (Орто Фармасьютикалс, США), который давно и успешно применяется по этому показанию. Эти данные послужили основой для начала клинических испытаний Атэмоната, который тоже предполагается применять для лечения РООТ. Во II фазе клинических испытаний участвовали 20 больных с реакцией острого отторжения трансплантата после пересадки почки. В 18 случаях (90 %) применение Атэмоната дало положительный результат по показателю восстановления функции или нормализации УЗИ-картины трансплантата. У 2 больных развились побочные эффекты (преходящая энцефалопатия и отек легких), потребовавшие дополнительного лечения. Однако у этих больных курс применения препарата Атэмонат не прерывался, и криз отторжения трансплантата был успешно купирован. Другие побочные эффекты соответствовали ожидаемым, исходя из механизма действия препарата (лихорадка, связанная с синдромом выброса цитокинов). После введения препарата Атэмонат содержание Т-лимфоцитов в крови быстро падало и нормализовалось через 7–10 дней. При этом параллельно снижалось содержание Т-хелперов/индукторов и Т-супрессоров/цитотоксических лимфоцитов. В то же время введение препарата Атэмонат существенно не влияло на количество В-клеток и НК-клеток; таким образом, Атэмонат селективно подавляет клеточный иммунитет, не затрагивая гуморального иммунитета и неспецифических иммунных реакций больных, что позволяет свести к минимуму риск инфекционных осложнений. В целом результаты II фазы клинических испытаний подтверждают высокую иммунологическую селективность, клиническую эффективность и безопасность применения препарата Атэмонат для купирования реакции отторжения трансплантата почки.

З. Г. Кадагидзе

#### КЛЕТКИ-СУПРЕССОРЫ В ПРОТИВООПУХОЛЕВОМ ИММУНИТЕТЕ

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

В настоящее время полагают, что в процессе развития злокачественных опухолей реакции иммунной системы отличаются большим

разнообразием. Практически одновременно может происходить активация противоопухолевого иммунитета, ускользание опухоли от иммунного ответа, стимуляция опухолевого процесса, иммунологическая толерантность. Тот или иной результат является следствием взаимодействия различных субпопуляций иммунокомпетентных клеток, продукции цитокинов клетками как иммунной системы, так и опухолевыми. Особое значение в регуляции противоопухолевого иммунного ответа придается клеткам-супрессорам. В настоящее время считается, что супрессорными свойствами обладают клетки как Т-клеточной популяции, так и миелоидными. Среди Т-клеточной популяции это Tr1 и Th3-клетки (образуются после антигенной стимуляции),  $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$  регуляторные клетки и НКТ-клетки. В последнее время большое внимание уделяется миелоидным супрессорным клеткам (МСК), которые имеют большое значение для обеспечения прогрессивного роста опухоли: они не только функционируют как эффекторы «ускользания» опухоли от иммунологического надзора, но также обеспечивают опухоль молекулярными и клеточными компонентами, необходимыми для нео-ангиогенеза. Нарушение цитокинового гомеостаза, которое вызывает растущая опухоль, может привести к накоплению этих клеток в лимфоидных органах и крови и к их созреванию в направлении супрессорного фенотипа. Другая уникальная популяция – НКТ-клетки ( $\text{CD1d}$ -зависимые НК-подобные лимфоциты) играет большую роль как в естественной защите, так и в модуляции противоопухолевого иммунитета. Особенностью этих клеток является их способность распознавать липидные/гликолипидные антигены, презентруемые неклассической молекулой  $\text{CD1d}$  в отличие от обычных Т-клеток и Трег, распознающих пептидные антигены, презентруемые классическими молекулами МНС I и II классов. В настоящее время разрабатываются методы подавления супрессорной активности этих популяций как в эксперименте, так и в клинике. Большие успехи достигнуты в изучении роли Трег в противоопухолевом иммунитете и разработке подходов к блокаде их функциональной активности. Имеющиеся клинические данные указывают, что уменьшение количества Трег способствует активации противоопухолевого иммунитета и подавлению опухолевого роста. Таким образом, в последнее время появилось новое направление в иммунотерапии опухолей, заключающееся в воздействии на иммуносупрессию за счет удаления супрессорных клеток или блокады их дифференцировки или их супрессивных молекул.

Д. Б. Казанский

#### ВНУТРИТИМУСНАЯ СЕЛЕКЦИЯ И ИММУНОТЕРАПИЯ РАКА

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

Злокачественная трансформация является следствием генетических и эпигенетических нарушений. Чтобы «увидеть» мутантный или aberrантно экспрессированный белок, иммунная система должна иметь возможность «заглянуть» внутрь клетки. Эту возможность ей предоставляют молекулы МНС, способные прочно связаться с пептидами внутриклеточных белков и вынести их на поверхность клетки. Единственными клетками иммунной системы, способными специфически распознавать такие комплексы, являются Т-лимфоциты, и поэтому именно они рассматриваются как центральное звено для стимуляции специфического противоопухолевого иммунитета.

Мутантные опухолеспецифические антигены редко становятся мишенью противоопухолевых иммунных ответов. Причиной этого может быть высокая эффективность иммунологического надзора, отбирающего неиммуногенные клоны трансформированных клеток. Вместе с тем далеко не все мутации в структуре онкогенных белков могут быть обнаружены иммунной системой, поскольку молекулы МНС избирательно связываются лишь с пептидами, содержащими специфичные для данного аллеля структурные мотивы.

Опухелеассоциированные антигены – нормальные (немутантные) белки, экспрессированные «не в том месте и не в то время», к которым иммунная система в норме толерантна и иммунный ответ развивается с трудом. Толерантность к ним формируется в тимусе путем устранения клонов Т-клеток, эффективно распознающих «свои» комплексы молекул МНС и пептидов. Активность гена AIRE (аутоиммунный регулятор) в медуллярном эпителии тимуса приводит к экспрессии широкого ряда стадио- и тканеспецифических белков, включая хорошо известные мишени терапевтических противоопухолевых

вакцин ( $\alpha$ -фетопротенин, антигены тестиса и меланом). Презентация пептидов этих белков собственными молекулами МНС внутри тимуса приводит к делекции клонов Т-клеток, способных стать мишенями специфической иммунотерапии онкологических заболеваний. С одной стороны, это предотвращает возникновение аутоиммунных заболеваний, а с другой – из тимуса в периферические лимфоидные органы могут попасть лишь низкоавидные клоны Т-клеток, не способные к полноценному иммунному ответу на опухолеассоциированные антигены. Это означает, что главным условием эффективности специфической иммунотерапии опухолей должна быть ее способность предотвращать негативную селекцию Т-клеток с нужной специфичностью внутри тимуса. Таким образом, центральной задачей специфической иммунотерапии следует считать поиск путей индукции «полезного» аутоиммунитета к опухолеассоциированным антигенам.

*А. Ф. Куркин, К. Н. Джанджугазян*

### **ПЕРСПЕКТИВЫ ДЕНДРИТО-КЛЕТОЧНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ**

*Сканселл Лимитед, Хорсхолм, Дания*

Иммунотерапия, основанная на применении дендритных клеток, поначалу подававшая большие надежды, привлекает сейчас гораздо меньше внимания вследствие в целом довольно низкой эффективности этого вида терапии. В числе возможных причин можно предположить неадекватный выбор опухолевых антигенов в качестве мишеней, а также низкое качество полученных *ex vivo* дендритных клеток.

Мы попытались сконцентрироваться на решении обеих этих проблем. В качестве мишени была выбрана группа опухоле-семенниковых антигенов, которая, за исключением семенников, где она не узнается Т-лимфоцитами, избирательно экспрессирована только в опухолевых клетках. В качестве источника антигенов для нагрузки дендритных клеток была выбрана клеточная линия меланомы, экспрессирующая широкий спектр опухоле-семенниковых антигенов и лишенная дифференцировочных антигенов меланоцитов. Метод получения дендритных клеток был оптимизирован таким образом, чтобы достигалось их полное созревание, равномерная высокая экспрессия костимуляторных молекул CD80 и CD86, а также продукция IL12p70, цитокина, важного для иммунного ответа типа Th1. Клетки также экспрессировали CCR7-молекулу, участвующую в их миграции к лимфоузлу. Первые результаты использования такой дендритоклеточной вакцины в клинических испытаниях против рака толстой кишки, проведенные Национальным онкологическим центром Сингапура совместно с датской компанией, владеющей правами на технологию, показали весьма обнадеживающие результаты.

Дальнейшее развитие вакцин на основе дендритных клеток должно концентрироваться на усилении антигенной презентации и повышении способности дендритных клеток к стимуляции образования CD8<sup>+</sup>-центральных клеток иммунологической памяти.

*А. Ф. Лазарев, В. Д. Петрова, Е. Л. Секержинская,  
Л. С. Скрябина, Л. А. Чурилова, О. А. Кремлева,  
Е. И. Россоха, В. П. Цивкина*

### **ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА ГЕРЦЕПТИН В УСЛОВИЯХ ДНЕВНОГО СТАЦИОНАРА**

*Алтайский филиал ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Барнаул  
ГУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер», Барнаул*

**Введение.** Одним из факторов, свидетельствующим об агрессивности рака молочной железы (РМЖ), является протоонкоген HER2. HER2/neu относится к семейству эпидермальных факторов роста, его повышенная экспрессия имеет место в 25–30 % случаев РМЖ, причем амплификация гена обнаруживается в 30 % случаев (М. Р. Личиницер, 2006; В. Ф. Семиглазов, 2006). Результатом многолетних исследований явилось получение гуманизированных антител к HER2 – трастузумаба (герцептина). Герцептин – моноклональное антитело, направленное на внеклеточный домен белка HER2, продукта протоонкогена HER2/neu. В настоящее время установленным является факт положительного эффекта таргетной терапии Герцептином,

проявляющимся в увеличении выживаемости и улучшении качества жизни больных РМЖ.

**Задачи исследования.** Оценить возможности применения препарата Герцептин в амбулаторных условиях.

**Материалы и методы.** В 2005–2006 гг. в условиях дневного стационара ГУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер» получали Герцептин 15 больных РМЖ в возрасте от 26 до 55 лет, имеющие различные стадии процесса (кроме IV). Все они закончили специальное лечение согласно существующим стандартам. Показанием для таргетной терапии явилась гиперэкспрессия HER2/neu<sup>+++</sup>, подтвержденная иммуногистохимическим методом. До начала лечения пациентки были проконсультированы кардиологом с выполнением ЭКГ и эхокардиографии, контроль за данными которых проводили не реже 1 раза в 3 мес. Герцептин назначался в нагрузочной дозе 4 мг/кг массы тела в виде 90-мин внутривенной инфузии, затем в поддерживающей дозе – 2 мг/кг 1 раз в нед в виде 30-мин инфузии. Продолжительность лечения составила 12 мес. 14 пациенток получали терапию Герцептином в адьювантном режиме – по завершении комплексного лечения, 1 – по поводу генерализации процесса.

**Результаты.** 5 пациенток на сегодняшний день закончили лечение. Одной было выполнено 43 введения Герцептина, препарат был отменен вследствие неудовлетворительных показателей эхокардиографии. Одной пациентке, получившей специальное лечение в 2005 г., было выполнено 51 введение Герцептина, на фоне которого выявлены метастазы в печень. Две пациентки после комплексного лечения РМЖ завершили биотерапию Герцептином (52 введения препарата), данных за рецидив и генерализацию процесса нет. У пациентки, проходившей лечение по поводу генерализации процесса (получила до биотерапии 6 курсов химиотерапии в режиме гемзар + цисплатин, курс дистанционной лучевой терапии, эндокринотерапию ингибиторами ароматазы), после 51 введения Герцептина регистрируется полная регрессия опухоли. 11 пациенток находятся в процессе лечения Герцептином, на момент сообщения признаков прогрессирования заболевания не выявлено. Из побочных эффектов следует отметить в 100 % случаев гипертермическую реакцию на первое введение препарата и проявление кардиотоксичности в 6,6 % у больных, получавших ранее антрациклины.

**Выводы.** Таким образом, препарат Герцептин обладает хорошей переносимостью и может быть рекомендован для широкого применения в амбулаторных условиях.

*В. В. Лебедев, С. А. Новиков*

### **ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ – ПРОТОТИПА ТИМИЧЕСКОГО ГОРМОНА (ИМУНОФАН) И ПРОТОТИПА БУРСОПОЭТИНА НА ТРАНСПОРТНЫЕ БЕЛКИ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ**

*ФГУН ЦНИИ эпидемиологии, Москва*

**Цель исследования.** Изучение влияния регуляторных синтетических гексапептидов на активность транспортных белков множественной лекарственной устойчивости.

**Материалы и методы.** В работе использовали перевиваемые линии клеток рака гортани человека Her-2, асцитной карциномы Эрлиха и лимфолейкоза P388. В качестве исследуемых фармакологических агентов использовали гидрофильные синтетические гексапептиды – прототипы тимического гормона (имунофан) и бурсопоэтина. Активность в клетках транспортных белков, ответственных за множественную лекарственную устойчивость (МЛУ), определяли по скорости выхода из клеток родамина 123 и кальцеина АМ. Влияние регуляторных гексапептидов на белки МЛУ сравнивали с действием известного конкурентного ингибитора – циклоспорин А.

**Результаты.** Сравнительный анализ действующих концентраций гексапептидов и циклоспорина А на активность транспортных белков демонстрирует их различия не менее, чем в 1000 раз. Так имунофан оказывает ингибирующее влияние на выход R123 из клеток Her-2 при концентрации 0,12 нМ. Напротив, циклоспорин А не действует до концентрации 10 нМ. Пептиды оказывают максимальный эффект в

диапазоне концентраций 1–3 нМ, а циклоспорин А – при концентрациях 0,8–2,5 мкМ.

**Выводы.** Специфическая активность пептидов по тесту ингибирования МЛУ превосходит известные субстратные аналоги не менее, чем в 1000 раз. Гидрофильные гексапептиды – имунофан и прототип бурсопоэтина – оказывают регуляторное действие на активность транспортных белков МЛУ в зависимости от их функционального состояния. Обнаруженные свойства гексапептидов открывают возможность их клинического применения для преодоления МЛУ.

*М. И. Лукашина<sup>1</sup>, А. В. Смирнова<sup>1</sup>, В. А. Алиев<sup>1</sup>,  
В. П. Вейко<sup>2</sup>, И. Н. Михайлова<sup>1</sup>, Л. В. Демидов<sup>1</sup>,  
Ю. А. Барсуков<sup>1</sup>, А. Ю. Барышников<sup>1</sup>*

### **ДЕНДРИТНОКЛЕТОЧНЫЕ ВАКЦИНЫ В СОЧЕТАНИИ С ПОЛИХИМИОТЕРАПИЕЙ В ЛЕЧЕНИИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА**

<sup>1</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

<sup>2</sup>ГосНИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Москва

**Введение.** Дендритные клетки (ДК), как полагают, являются наиболее мощными стимуляторами иммунологических реакций организма. Они способны распознавать и представлять антигены Т- и В-лимфоцитам в ассоциации с молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС). Однако функциональная активность ДК у онкологических больных значительно снижена, основной причиной этого явления считается невозможность их дифференцировки в зрелые формы в организме больного. Создание противоопухолевых вакцин с использованием ДК – перспективная стратегия терапии онкологических заболеваний.

**Цель исследования.** Возможность использования ДК для терапии больных колоректальным раком.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 18 больных с метастатическим колоректальным раком после циторедуктивной операции с удалением первичного очага; у всех верифицированы множественные метастазы в печень; средний возраст составил 56,7±6 лет. ДК культивировали из моноцитов периферической крови в присутствии ГМ-КСФ, ИЛ-4, ФНО-α и ПГЕ-2. Нагрузку ДК проводили рекомбинантным пептидом, который представляет собой 22 tandemных повтора антигена MUC-1, названным VNTR<sub>22</sub> (12 больных), или аутологичным лизатом (6 больных). Плотность вводимой клеточной суспензии составляла 1–6 млн. Трансплантацию аутологичных ДК проводили подкожно, в паховую, затем, после заживления послеоперационного шва, в пупочную область. Все больные получили по 4 введения ДК с интервалом 2–3 нед. После вакцинотерапии больным проводили полихимиотерапию с использованием томудекса и кампто.

**Результаты.** Реакция гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) развилась у 9 больных, после 2-го, 3-го и 4-го введений, из них: 4 пациента получали вакцину ДК, нагруженных лизатом, 5 – белком. Анализ общей выживаемости проводили в группах: 1-я – контрольная группа, больные получали только полихимиотерапию (28 человек); 2-я – больные получали вакцину и полихимиотерапию (12 человек); 3-я – только вакцину (6 человек). Было показано, что в 1-й группе медиана выживаемости составила 23,6 мес; во 2-й медиана выживаемости не достигнута; в 3-й – 8,3 мес. Токсических эффектов при введении вакцины у больных не отмечалось.

**Выводы.** Таким образом, сочетанное применение вакцино- и полихимиотерапии улучшает общие результаты лечения больных колоректальным раком

*Л. В. Манзюк<sup>1</sup>, Е. В. Артамонова<sup>1</sup>, А. Г. Бородкина<sup>1</sup>,  
Л. В. Болотина<sup>2</sup>, Т. А. Кармакова<sup>2</sup>, Е. Р. Немцова<sup>2</sup>,  
Р. И. Якубовская<sup>2</sup>*

### **ИМУТЕРАН – ПЕРВЫЙ ОТЕЧЕСТВЕННЫЙ ПРЕПАРАТ НА ОСНОВЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ (I – II ФАЗА КЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ)**

<sup>1</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

<sup>2</sup>ГГУ «МНИОИ им. П. А. Герцена Росздрава», Москва

Применение моноклональных антител (МКА) – это новое перспективное направление терапии злокачественных новообразований.

Одним из таких лекарственных агентов является имутеран – оригинальный российский препарат, созданный совместно РОНЦ им. Н. Н. Блохина и МНИОИ им. П. А. Герцена на основе субстанции МКА ICO-25, полученных к эпителию MUC-1 (CD227). Доклинические исследования продемонстрировали высокую специфичность, значительную противоопухолевую активность *in vivo* и низкую токсичность ICO-25.

Клинические испытания имутерана по I фазе проведены у 10 больных с распространенным опухолевым процессом. Имутеран вводился в/в капельно 1 раз в неделю – 4 введения. Проводилась эскалация разовых доз по модифицированной шкале Фибоначчи от стартовой (5 мг – 100 %) до максимальной (46,25 мг – 925 %). Основные побочные эффекты – аллергические реакции. Для II фазы клинических испытаний был рекомендован режим введения имутерана по 35 мг (700 % от стартовой дозы) в/в капельно 1 раз в неделю – 4 введения с премедикацией димедролом.

На настоящий момент в исследование по II фазе включены 42 больных с распространенным опухолевым процессом, у которых все возможности химиотерапии были исчерпаны. Проведено 79 курсов лечения имутераном. Из-за развившихся осложнений (у 4 больных – аллергическая реакция, у 1 – парез кишечника) у 5 пациенток лечение прекращено. Оценено 34 больных. Объективных регрессий опухоли не наблюдали. У 12 (35,3 %) из 34 больных отмечена стабилизация процесса продолжительностью от 8 до 44 нед, в среднем 15,67±9,7 нед, медиана 13 нед (7/18 – с диагнозом рак молочной железы, 2/5 – рак толстой кишки, 2/2 – рак маточной трубы и 1/3 – немелкоклеточный рак легкого). У 22/34 больных (11 – рак молочной железы, 6/6 – рак яичников, 3 – рак толстой кишки, 2 – немелкоклеточный рак легкого) выявлено прогрессирование. Исследование продолжается.

*А. А. Михайлова<sup>1</sup>, Р. Г. Белевская<sup>1</sup>, С. А. Гурьянов<sup>1</sup>,  
Л. А. Фонина<sup>1</sup>, Е. М. Трещалина<sup>2</sup>, Л. А. Седакова<sup>2</sup>*

### **ПРЕПАРАТ БИВАЛАСП (МИЕЛОПЕПТИД-5) – ИММУНОМОДУЛЯТОР С ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии им. акад. М. М. Шемякина и

Ю. А. Овчинникова РАН, Москва

<sup>2</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

Иммунная система играет основную роль в защите организма от любых чужеродных агентов, в том числе против опухолевых клеток. Но существуют разнообразные механизмы «ускользания» опухоли от иммунологического контроля. Поэтому в проблеме лечения злокачественных новообразований важны не только препараты, убивающие опухолевые клетки, но и иммунотерапия, восстанавливающая опухоль-индуцированную иммуносупрессию.

Миелопептиды (МП) – группа эндогенных иммунорегуляторных пептидов, обнаруженных российскими учеными. МП обладают иммунокорригирующим действием и являются элементами системы поддержания постоянства иммунного статуса организма. Действующая основа Биваласпа – синтетический аналог эндогенного иммунорегуляторного пептида МП-5 структурной формулы Val-Val-Tyr-Pro-Asp. Клеткой-мишенью для МП-5 является CD4<sup>+</sup>-лимфоцит. Известно, что продукты метаболизма опухоли снижают синтез эндогенного ИЛ-2 человека, а также экспрессию ИЛ-2-Р на Т-лимфоците. Биваласп способен восстанавливать подавленный опухолью синтез эндогенного ИЛ-2 и экспрессию ИЛ-2-Р, активируя тем самым пролиферативный ответ цитотоксических Т-лимфоцитов, что лежит в основе его противоопухолевого эффекта.

Нарушения в системе ИЛ-2/ИЛ-2-Р происходят в организме опухоленосителя под влиянием как опухоли, так и цитостатиков при химиотерапии онкобольных. В экспериментах *in vivo* на 3 перевиваемых опухолях мышей (лимфолейкоз Р388, рак шейки матки РШМ-5, плазмацитома МОРС-406) показано, что комбинированная терапия цитостатиками (циклофосфаном или цисплатином) и Биваласпом достоверно более эффективна, чем монохимиотерапия, что выявлено по торможению роста опухоли, увеличению продолжительности жизни, уменьшению лимфогенного метастазирования.

Биваласп – новый иммунокорригирующий препарат с противоопухолевым действием, перспективный для применения в комплексной терапии онкологических заболеваний. В настоящее время проводится I-я фаза клинических испытаний.

*И. Н. Михайлова, Н. Н. Петенко,  
Г. З. Чадава, Е. В. Огородникова,  
Л. Ю. Вишнякова, С. А. Хатыров,  
Е. А. Черемушкин, А. А. Борунова, З. Г. Кадагидзе,  
Л. В. Демидов, А. Ю. Барышников*

### **ВАКЦИНОТЕРАПИЯ МЕТАСТАТИЧЕСКОЙ МЕЛАНОМЫ ДЕНДРИТНЫМИ КЛЕТКАМИ**

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

**Введение.** Меланома в стадии регионарного и отдаленного метастазирования остается на данный момент заболеванием с неблагоприятным прогнозом и не имеет эффективных методов лечения. Она относится к иммуногенным опухолям, поэтому разработка методов специфической иммунотерапии для данной нозологии представляется актуальной.

**Цель исследования.** Изучить токсичность и переносимость вакцины на основе аутологичных дендритных клеток, а также оценить ее влияние на иммунный ответ и клиническую эффективность в лечении метастатической меланомы, как в терапевтическом режиме, так и после радикального хирургического вмешательства.

**Материалы и методы.** В качестве лечебного препарата применялась противоопухолевая вакцина на основе зрелых аутологичных дендритных клеток (ДК), нагруженных аутологичным опухолевым лизатом. ДК вводились внутривенно, разовая доза введения составляла от 1,0 до  $5,0 \times 10^6$  клеток, интервалы между вакцинациями 2–6 нед, кратность введения – до прогрессирования заболевания. С 2003 по 2006 гг. в исследование включены 42 пациента с метастатической меланомой в возрасте от 26 до 82 лет (в среднем 54 года), мужчины/женщины = 24/18. Больные были разделены на 2 клинические группы: 17 пациентов с регионарными и/или отдаленными метастазами получали вакцину в терапевтическом режиме в виде монотерапии; 25 пациентам с той же распространенностью заболевания вакциноterapia проводилась после радикального хирургического лечения, т.е. в профилактическом режиме. Токсические побочные эффекты оценивались по шкале токсичности (CTCAE v.3). Иммунологическая эффективность исследовалась при помощи иммунного статуса и РГЗТ. Объективный клинический ответ в терапевтической группе оценивался согласно критериям RECIST, в профилактической группе оценивалась безрецидивная выживаемость, и для обеих групп – общая выживаемость. Анализ выживаемости пациентов проводился по методу Kaplan-Meier. Большинству пациентов (75 %) до начала вакцинотерапии проводилось интенсивное лекарственное лечение, на фоне которого отмечено прогрессирование заболевания. Оценивались пациенты, завершившие вводную фазу лечения из первых 4 вакцинаций, к настоящему времени это 33 пациента (79 %). В терапевтической группе (n=13) проведено 210 вакцинаций (от 4 до 21 на пациента, в среднем 10,5); в профилактической группе (n=20) – 205 вакцинаций (от 4 до 38 на пациента, в среднем 15,8).

**Результаты.** Переносимость лечения хорошая. Выраженных побочных эффектов вакцинотерапии не отмечено. Клиническая эффективность в терапевтической группе составила 15,4 % (1 полный ответ, 1 частичный). Стабилизация заболевания длительностью от 2 и более мес отмечена в 5 случаях СЗ (38,5 %), 1-летняя выживаемость составила 42,5 %; медиана выживаемости – 9,5 мес. К настоящему моменту живы 5 пациентов. Время наблюдения от 4 до 39+ мес. В профилактической группе время до прогрессирования (медиана) составляет 10 мес, без признаков прогрессирования заболевания 45 % больных. 1-летняя выживаемость – 84 %. При медиане наблюдения 12 мес (от 3 до 20+) медиана выживаемости не достигнута. При изучении иммунного статуса больных 2 групп на фоне вакцинотерапии было выявлено увеличение количества Т-лимфоцитов (преимущественно за счет CD8<sup>+</sup>) и НК-клеток, а также уровня экспрессии активационных антигенов на их поверхности. В местах введения вакцины отмечались местные реакции в виде гиперемии, индукции и зуда, которые носили нарастающий характер и расценивались как проявление РГЗТ в ответ на опухолевые антигены, представленные дендритными клетками.

**Выводы.** Данный метод лечения хорошо переносим, не обладает выраженными побочными эффектами. Отмечена стимуляция противоопухолевого ответа иммунной системы в виде активации эффекторного звена клеточного иммунитета, а также умеренная клиническая эффективность.

*Л. М. Михайлова, Н. П. Ермакова, И. Б. Меркулова,  
О. И. Коняева, Е. Л. Членова, Н. Ю. Кульбачевская,  
Т. В. Абрамова, А. И. Мишин*  
**ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ  
ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ  
ВАКЦИНЫ МЕЛАВАК**

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

**Введение.** Противоопухолевая вакцина Мелавак представляет собой клеточную линию Mel Kog, стабильно трансфицированную человеческим геном ГМ-КСФ. Исходная клеточная линия Mel Kog получена из биопсийного материала от пациентки с метастазами меланомы в мягкие ткани и генетически модифицирована конструкцией кДНК ГМ-КСФ, встроенной в вектор pVK-CMV.

**Цель исследования.** Оценка безопасности вакцины Мелавак и прогноз побочных и токсических эффектов при клиническом применении больным меланомой.

**Материалы и методы.** Программа токсикологического исследования включала изучение безвредности вакцины Мелавак при однократном внутривенном введении мышам F<sub>1</sub>(CBA × C<sub>57</sub>Bl/6j) и неинbredным крысам в условиях «острого» эксперимента; изучение безвредности при многократном ежедневном внутривенном применении крысам в течение 7 дней в условиях краткосрочного «хронического» или «субхронического» эксперимента, изучение аллергизирующего действия и туморогенности. Для оценки безопасности применения вакцины Мелавак проведены морфо-функциональные исследования ее локального токсического (кролики, крысы) и системного (общетоксического) действия (мыши, крысы); исследованы аллергенные свойства (морские свинки) и туморогенность вакцины в сравнении с исследованием туморогенности неинактивированной меланомной клеточной линии Mel Kog, являющейся основой для вакцины Мелавак, при введении мышам Nude.

**Результаты.** При изучении токсических свойств вакцины Мелавак установлена ее хорошая переносимость животными в условиях как «острого», так и «субхронического» экспериментов, при применении в дозах, превышающих предполагаемую дозу для человека в 1000 – 10 раз (однократное введение) и в 100 – 10 раз (многократное введение). Вакцина Мелавак не влияет на общее состояние животных, не вызывает их гибели, клинических проявлений токсичности и изменений в поведенческих реакциях, токсических морфо-функциональных изменений со стороны органов и систем организма за исключением влияния на печень (обратимое воспалительно-деструктивное изменение паренхимы; увеличение активности трансаминаз и ЛДГ), а также на углеводный обмен при применении вакцины в токсических дозах.

Вакцина Мелавак обладает местнораздражающим действием, слабыми аллергенными свойствами и в отличие от неинактивированной жизнеспособной клеточной линии Mel Kog не обладает туморогенным действием.

**Выводы.** Противоопухолевая вакцина Мелавак нетоксична и рекомендована для клинической апробации.

*Л. М. Михайлова, Н. П. Ермакова,  
И. Б. Меркулова, Т. В. Абрамова,  
А. И. Мишин, А. Ю. Барышников*  
**ИССЛЕДОВАНИЕ ТУМОРОГЕННОСТИ  
ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ВАКЦИНЫ  
МЕЛАВАК**

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

**Введение.** Противоопухолевая вакцина Мелавак представляет собой клеточную линию меланомы человека Mel Kog, стабильно трансфицированную геном человеческого ГМ-КСФ и инактивированную облучением в дозе 100 Гр. Создана учеными ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН и Института биологии гена РАН.

**Цель исследования.** Оценка способности вакцины Мелавак вызывать развитие опухолей в месте ее подкожного введения и развитие метастазов во внутренних органах иммунодефицитных мышей.

**Материалы и методы.** Использованы 22 гибридные иммунодефицитные мыши-самки (BALB/c-Nude) разведения ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. 11 мышам подкожно в область спины вводили вакцину Мелавак в дозе  $1 \times 10^7$  клеток в объеме 0,2 мл. В качестве позитивного контроля 11 мышам вводили неинактивированные клетки опу-

холевой линии Mel Kog в том же объеме и количестве. Места введения вакцины и инокуляции неинактивированных опухолевых клеток на протяжении опыта регулярно осматривали и пальпировали в течение всего срока наблюдения (средняя продолжительность жизни интактных бестимусных мышей в условиях эксперимента –  $63 \pm 7$  сут). Критериями туморогенности вакцины Мелавак и неинактивированной клеточной линии Mel Kog служили количество и размеры развившихся опухолевых узлов, время их развития и частота метастазирования. Проводили макроскопическую и гистологическую оценку опухолевых узлов, мест инокуляции и возможного метастазирования: лимфатические узлы, легкие, почки, печень, головной мозг, сердце, селезенка.

**Результаты.** На 14-е сут у всех мышей группы позитивного контроля обнаружены подкожные опухоли, объем которых составил от 14,4 до 266 мм<sup>3</sup>. При гистологическом исследовании опухоли представляли собой меланому солидного строения, состоящие из округлых и полигональных эпителиоидных клеток. У мышей, получивших вакцину Мелавак, на месте инокуляции опухолей не обнаружено, у отдельных животных наблюдались фиброзные изменения. При исследовании внутренних органов и головного мозга мышей, получивших вакцину и клетки линии Mel Kog, метастатических поражений не выявлено.

**Выводы.** Опухолевая вакцина Мелавак не вызывает развития опухолей (меланом) на месте ее инокуляции, а также образования метастазов во внутренних органах и головном мозге бестимусных мышей. Клеточная линия Mel Kog вызывает развитие меланом на месте подкожной инокуляции.

А. Я. Муцениеце, Г. Я. Фелдмане, Е. А. Шаповалова,  
Р. Ж. Брувере, О. Г. Хейселе, Д. Р. Венкус

### БИОТЕРАПИЯ ИММУНОМОДУЛЯТОРАМИ ВИРУСНОЙ ПРИРОДЫ RIGVIR И LARIFANS ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ПРОГРЕССИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ: КЛИНИЧЕСКИЙ ОПЫТ С 1968 ГОДА

Институт Микробиологии и вирусологии им. А. Кирхштейна  
Рижского университета им. Страдыня, Латвия

**Задача исследования.** На основе протокола № 9 заседании Ученого совета ВОИЦ АМН СССР 4 июня 1985 г. в Латвии была предложена апробация оригинального препарата – вирусного иммуномодулятора RIGVIR<sup>TM</sup> в комплексной терапии злокачественной меланомы. Одновременно изучалось противоопухолевое действие второго оригинального иммуномодулятора, индуктора интерферона – LARIFANS<sup>TM</sup>.

**Материалы и методы.** Оба препарата, иммуномодуляторы с противоопухолевой активностью, разработаны в институтах АН Латвии. Анализ выживаемости проводили на больных меланомой кожи и глаз, раком прямой кишки, получивших биотерапию RIGVIR-ом, частично в рамках рандомизированного исследования. LARIFANS был включен в комплексную терапию меланомы и метастатического плеврита. Регулярно проверялись данные иммунного статуса. Опухоли исследовались морфологическими методами, а также определяли уровень экспрессии опухолеассоциированных антигенов.

**Результаты.** 5-летняя выживаемость больных меланомой, получивших RIGVIR, против других методов согласно стадиям: IА – 92,6 % против 66,7 %; IВ – 88,9 % против 28,6 %; IС – 76,5 % против 14,3 %; IV – 84 % против 9 %. Средняя продолжительность жизни при подкожных метастазах – 12 лет, при наличии метастазов в легкие – 4 года. 5-летняя выживаемость больных, получивших лечение после удаления метастатического регионального лимфоузла, – 75 % по сравнению с 21 % при применении других иммуномодуляторов. Полная регрессия подкожных метастазов во время лечения препаратами RIGVIR и LARIFANS сопровождается повышением числа CD8<sup>+</sup>-клеток в периферической крови. Первичные (в первые 3–6 сут) морфологические изменения выявляются в основном цитологическим методом и соответствуют цитолизу опухолевых клеток. Регрессия опухолей сопровождается инфильтрацией в опухоли Т-лимфоцитов и плазматических клеток, апоптозом опухолевых клеток и атрофией опухолевых розеток.

**Выводы.** Основой противоопухолевого действия препаратов RIGVIR и LARIFANS является вирусный онколиз в комбинации с реакцией иммунологического отторжения опухоли.

К. Д. Никитин, А. М. Козлов, М. И. Лукашина,

А. В. Смирнова, А. Ю. Барышников

### КОМБИНАЦИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ВАКЦИНЫ НА ОСНОВЕ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК И ЛОКАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ ДЛЯ ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

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

**Введение.** Дендритные клетки (ДК) играют важнейшую роль в функционировании иммунной системы. Они являются профессиональными антигенпрезентирующими клетками (АПК). Способность к захвату, процессингу и презентации антигенов у ДК в сотни раз выше, чем у других АПК. Предполагается, что противоопухолевые вакцины на основе ДК могут способствовать развитию эффективного иммунного ответа, направленного на опухолевые антигены.

**Цель исследования.** В данной работе исследуется способ повышения эффективности противоопухолевых вакцин на основе незрелых ДК за счет комбинации их с локальной гипертермией опухоли.

**Материалы и методы.** Мышам C<sub>57</sub>bl/6 (возраст 2 нед, вес 15–18 г) была подкожно трансплантирована меланома B16/F10 (взвесь  $7 \times 10^5$  клеток в среде RPMI-1640). Перед введением опухолевые клетки культивировались *in vitro* в полной среде RPMI-1640 с добавлением 10% ТЭС. Дендритные клетки выделялись из костномозговых предшественников, полученных из бедренных и большеберцовых костей сингенных мышей, путем культивирования в течение 7–8 дней в полной среде RPMI-1640 с добавлением 10% ТЭС, 60–100 Ед/мл рекомбинантного мышиного GM-CSF, 6–10 Ед/мл рекомбинантного мышиного IL-4, 6–10 Ед/мл рекомбинантного мышиного SCF.

**Результаты.** Мыши были разделены на 4 группы: 1-я группа – контроль, 2-я – только гипертермия, 3-я – только дендритноклеточная вакцина, 4-я – гипертермия + вакцина. На 9-й день после трансплантации выросшие опухоли мышшей в группах 2-й и 4-й были подвергнуты лазерной гипертермии: опухоль локально нагревалась до 46 °С, такая температура поддерживалась в течение 15 мин. На 10-й день мышам в группах 3-й и 4-й внутрь опухоли были введены незрелые дендритные клетки в дозе 1 млн/мышь. В дальнейшем размер опухоли измерялся каждые 2–3 дня.

Наименьшая динамика роста опухолей наблюдалась в группах 2-й и 4-й, очевидно, за счет физического разрушения опухоли высокой температурой. В то же время введение незрелых дендритных клеток (в группах 3-й и 4-й) стимулировало рост опухоли (по сравнению с контрольной группой).

**Выводы.** В связи с полученными результатами вопрос о степени функциональной зрелости дендритных клеток представляется чрезвычайно важным. Требуется дальнейшее исследование для разработки рациональных схем применения локальной гипертермии и противоопухолевых вакцин на основе ДК.

### К. А. Парсункова<sup>1</sup>, И. Н. Михайлова<sup>2</sup>, Л. Б. Краснова<sup>1</sup>, С. Г. Кузьмин<sup>1</sup>, Г. Н. Ворожцов<sup>1</sup>, А. Ю. Барышников<sup>2</sup> ДИНАМИКА УРОВНЕЙ ИЛ-2 И ИФНУ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ ДИССЕМИНИРОВАННОЙ МЕЛАНОМЕ

<sup>1</sup>ГУП МНКЦ «Интермедбиофизхим», Москва

<sup>2</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина, Москва

**Цель исследования.** Изучение цитокинопосредованных механизмов развития противоопухолевого иммунитета, оценка уровня цитокинов, их прогностическая ценность и мониторинг в ходе вакцинотерапии.

**Материалы и методы.** Обследованы 17 пациентов, получающих дендритную вакцину, и 12 онкобольных, получающих аллогенную вакцину.

Уровень сывороточных цитокинов ИЛ-2 и ИФНу определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа на спектрофотометре Stat Fax (США) с использованием коммерческих тест-систем Bender Med Systems (Австрия).

**Результаты.** Одной из задач вакцинотерапии является активация Т-лимфоцитов I типа (Т<sub>1</sub>) и формирование эффективного противоопухолевого иммунного ответа. Продуцируемый Т<sub>1</sub>-клетками ИФНу активирует макрофаги для уничтожения опухолевых клеток путем

освобождения посредников реактивного кислорода и TNF- $\alpha$ , индуцирует и увеличивает экспрессию антигенов ГКГ на макрофагах, Т- и В-клетках и некоторых опухолевых клеточных линиях.

ИФН $\gamma$  предпочтительно ингибирует пролиферацию Т<sub>2</sub>-клеток, индуцируя антипролиферативный ответ. В синергизме с ИЛ-2 повышает синтез легких цепей иммуноглобулинов. ИЛ-2 также является Т<sub>1</sub> «противоопухолевым» цитокином, в задачи которого входит активация клональной пролиферации Т-лф, позволяющая мобилизовать цитотоксические лимфоциты и натуральные киллеры на борьбу с опухолью. Увеличивает продукцию эндогенных интерферонов, вызывающих прямой апоптоз опухолевых клеток. ИЛ-2 повышает экспрессию МНС I и II классов, увеличивая при этом вероятность распознавания опухолевой клетки как чужеродной, и подавляет экспрессию ростовых факторов опухоли. ИФН $\gamma$  совместно с ИЛ-2 корректирует субпопуляционный баланс Т<sub>1</sub> и Т<sub>2</sub> в сторону преобладания Т<sub>1</sub>.

Анализ полученных данных позволил установить, что исходный уровень ИФН $\gamma$  у 91,6 % больных, получающих аллогенную вакцину, соответствовал норме (0–25 пг/мл, по исследованию ЗАО «Вектор-Бест», Кольцово, Новосибирская обл.) и составил в среднем 2,3 пг/мл, у 8,4 % – превысил норму и составил 27,9 пг/мл.

При вакцинации эта группа условно была разделена на 2: 1-я – у 50 % (6 человек) имела тенденция к повышению данного показателя; 2-я – у 50 % (6 человек) отмечено снижение содержания ИФН $\gamma$ .

Содержание ИЛ-2 определялось в динамике у 8 пациентов. Следует отметить, что изначально содержание этого цитокина значительно превышало нормальные значения у 87,5 % – 29,25 пг/мл, а у 12,5 % достигало 109,9 пг/мл (норма 1,3 $\pm$ 0,2 пг/мл). При мониторинге ИЛ-2 также выявились 2 группы пациентов: 1-я у 3 человек (37,5 %) – повышение; 2-я у 5 человек (82,5 %) – снижение.

Онкобольные, получающие дендритную вакцину, по содержанию ИФН $\gamma$  также условно были поделены на 3 группы.

Концентрация ИФН $\gamma$  изначально не превышала нормального значения, а в ходе вакцинотерапии у 47 % имела тенденция к повышению, у 41,2 % – к понижению и у 5,8 % осталась неизменной.

Уровень ИЛ-2 в среднем имел значение 30,8 пг/мл, значительно превышающее нормальное (1,3 $\pm$ 0,2 пг/мл) в начале вакцинации, а при мониторинге у 41,2 % снижался, у 52,9 % – повышался и у 5,8 % не изменился.

**Выводы.** Таким образом, цитокиновый профиль сыворотки крови является информативным показателем состояния иммунореактивности пациентов с диссеминированной меланомой и может быть использован для динамического наблюдения в ходе вакцинотерапии.

*С. М. Ситдикова, Б. С. Аманджолов, И. М. Лученко, М. В. Киселевский, Ф. В. Доненко*  
**ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ  
 КОМПЛЕКСА БЕЛКОВ  
 СЫВОРОТКИ КРОВИ МЫШЕЙ  
 С КАРЦИНОМой ЭРЛИХА**

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

**Введение.** Эффект ускорения роста опухоли у животных, вакцинированных прогретыми клетками этой же опухоли, впервые описан в 1907 г. и в последующем неоднократно воспроизведен и исследован. В частности, было установлено, что этот феномен опосредован гуморальными факторами иммунизированных животных. Результаты изучения особенностей роста и метастазирования экспериментальных опухолей, в частности, карциномы Эрлиха, свидетельствуют о значительной роли в этом процессе белков сыворотки крови.

**Цель исследования.** Изучение особенностей влияния гемоглобин-содержащего комплекса белков сыворотки крови (ГСК) на пролиферацию опухолевых клеток и продолжительность жизни животных с трансплантированной карциномой Эрлиха.

**Результаты.** В настоящем исследовании на мышцах-самцах линии С<sub>57</sub>Bl/6 с внутрибрюшинно и внутримышечно трансплантированной карциномой Эрлиха показано, что введение ГСК, выделенного у животных с опухолью, приводит к полному излечению опухоли с объемом асцитической жидкости 8–10 мл. Вылеченные животные были

устойчивы к повторной трансплантации опухоли даже при увеличении прививочной дозы до 4 $\times$ 10<sup>7</sup> клеток/мышь. Наблюдение за животными продолжалось в течение года, и после их умерщвления на вскрытии не было обнаружено никаких признаков опухолевого процесса. Введение ГСК, не влияя на лимфоциты, нарушает распределение клеток карциномы Эрлиха по циклу и вызывает гибель около 34,3 % опухолевых клеток при 2 % в контроле, а в системе *in vitro* ГСК не влиял на рост карциномы Эрлиха. При менее 5-кратном введении ГСК получено замедление роста асцитной карциномы Эрлиха. Продолжительность жизни животных с трансплантированной опухолью увеличивалась до 3 мес. При этом опухолевые клетки сохраняли свои свойства и при трансплантации интактным животным вызывали их гибель в течение 2–3 нед (как исходный штамм). В состав ГСК входят белки с более низкой молекулярной массой: 100; 68; 65; 15 кДа, идентифицированные MALDI-TOF-масс-спектрометрией как гаптоглобин, сывороточный альбумин, gii26341396 неозаванный белок [Mus musculus], гемоглобин альфа соответственно.

**Выводы.** Описанный феномен излечения трансплантированной карциномы Эрлиха нуждается в дальнейшем углубленном изучении, в том числе на других экспериментальных моделях.

*Е. Г. Славина, А. И. Черткова, Т. Н. Заботина, А. А. Борунова, З. Г. Кадагидзе*

**ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА  
 ПРЕПАРАТА ОЛИПИФАТ**

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

Иммуномодулирующие свойства олипифата изучали у больных раком почки и меланомой. Определяли влияние проводимой терапии на основные показатели иммунологической реактивности: субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови, цитотоксическую активность естественных киллеров (НК), концентрацию иммуноглобулинов IgG, IgA и IgM в сыворотке крови. Тестирование образцов крови больных проводили до начала терапии и далее до и после каждого курса лечения. Сравнение полученных результатов проводили между группой больных, лечение которых привело к стабилизации процесса (группа «Стабилизация»), и больных, у которых на фоне терапии отмечалось прогрессирование болезни (группа «Прогрессирование»). В исследование были включены 22 больных меланомой и 17 – раком почки. Популяционный состав лимфоцитов периферической крови больных определяли с помощью набора моноклональных антител к дифференцировочным антигенам лимфоцитов человека на проточном цитофлюориметре FACSCalibur (Becton Dickinson, USA) с использованием коммерческого пакета программ сбора и анализа данных CellQuest. Активность НК-клеток изучали в цитотоксическом тесте против линии клеток эритролейкемии K-562 в модификации с помощью полуавтоматического спектрофотометрического МТТ-теста. Концентрацию иммуноглобулинов в сыворотке крови определяли по методу Манчини. Проведенное исследование показало, что у больных раком почки и меланомой, получавших лечение олипифатом, наблюдаются различия в динамике изменений % -го содержания некоторых субпопуляций лимфоцитов между группами пациентов со стабилизацией и прогрессированием заболевания. Проводимая терапия у части больных приводила к нормализации как сниженного, так и повышенного %-го содержания CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> лимфоцитов, а при раке почки наблюдалось также повышение до нормы в процессе лечения такого важного показателя, как иммунорегуляторный индекс (CD4/CD8) у больных, у которых до лечения он был снижен. Именно у таких больных наблюдалась стабилизация процесса.

**Выводы.** 1. Олипифат обладает умеренно выраженной иммуномодулирующей активностью. 2. Иммуномодулирующие свойства препарата наиболее выражены у больных с исходно пониженной пропорцией CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, и именно у этих больных отмечена стабилизация болезни. У больных, лечение которых вызвало стабилизацию заболевания, отмечалась также нормализация % CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов, повышение % активированных лимфоцитов. 3. Возможно, с иммуномодулирующей активностью препарата частично связан клинический эффект у части больных раком почки и меланомой.

# ДИАГНОСТИКА

А. С. Белохвостов<sup>1</sup>, В. М. Фениксов<sup>2</sup>, А. Р. Зарецкий<sup>1</sup>,  
А. А. Абрамов<sup>1</sup>, С. И. Маркова<sup>1</sup>, А. Г. Румянцев<sup>1</sup>

## ОПТИМИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ АНАЛИЗОВ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ, МОНИТОРИНГА ОПУХОЛЕВОГО ПРИСУТСТВИЯ И СВОЕВРЕМЕННОЙ ДЕТЕКЦИИ ПРИОБРЕТЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ

<sup>1</sup>ФГУ ФНКЦ ДГОИ Росздрава, Москва

<sup>2</sup>РМАПО, Москва

**Цель исследования.** Определение общей стратегии оптимизации молекулярно-генетических тестов для их рутинного клинического использования, т.е. создание максимально чувствительных, специфичных и воспроизводимых методик при минимизации финансовых и трудовых затрат на осуществление каждого отдельного теста.

**Материалы и методы.** Различные протоколы анализа гипермутабельных участков генов *p53*, *k-ras*, *B-raf*, *EGFR* и *C-kit* сравнивались по чувствительности и специфичности. В основе каждого из методов лежала ПЦР-амплификация соответствующего фрагмента ДНК; сопоставлялись разные протоколы амплификации, а также разные методы обогащения ПЦР для увеличения ее чувствительности (с помощью обработки рестриктазами и с помощью труднообратимой гибридизации с PNA-пробами) и различные способы детекции ПЦР-продукта (электрофорез в агарозном геле, рестрикция с последующим электрофорезом в агарозном геле, SSCP-электрофорез в ПААГ и real-time PCR с использованием зондов TaqMan).

**Результаты.** Для молекулярно-генетического профилирования опухолевой ткани оптимальным по соотношению всех параметров оказался метод ПЦР-амплификации с одновременным обогащением с помощью PNA-проб и детекцией в реальном времени с помощью зондов TaqMan. Однако этот метод показал себя недостаточно чувствительным при анализе ультраминорных фракций ДНК с мутациями. Для этих целей оптимальным оказался четырехэтапный метод анализа, включающий ПЦР-амплификацию, обработку рестриктазой, вторую ПЦР-амплификацию и детекцию с помощью обработки другой рестриктазой и последующего агарозного электрофореза.

**Выводы.** Задача молекулярно-генетического профилирования опухоли может быть решена с помощью мультиплексных тест-систем, основанных на real-time PCR с зондами TaqMan и обогащением с помощью PNA-проб. Неинвазивный мониторинг мутаций опухолевого происхождения в различных биологических образцах можно осуществлять только с помощью рестрикционно-обогащенной ПЦР.

А. С. Белохвостов, С. И. Маркова, А. Р. Зарецкий,  
А. А. Абрамов, А. Г. Румянцев

## РАННЯЯ НЕИНВАЗИВНАЯ ДЕТЕКЦИЯ ПРИОБРЕТЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ К ИНГИБИТОРАМ БЕЛКА EGFR (ПРЕПАРАТАМ ИРЕССА И ТАРЦЕВА)

ФГУ ФНКЦ ДГОИ Росздрава, Москва

**Цель исследования.** Разработка и оптимизация высокочувствительного теста для выявления в плазме крови и слюне минорных фракций ДНК с изменениями в 20-м экзоне гена *EGFR*, вызывающими резистентность опухолей к препаратам Иресса и Тарцева.

**Материалы и методы.** Сравнивались между собой различные протоколы ПЦР-амплификации гипермутабельного участка 20-го экзона гена *EGFR*, а также различные методы обогащения ПЦР-продукта мутантной фракцией (с мутацией Т790М) и детекции этой фракции. Кроме того, сравнивались между собой разные протоколы метилспецифической ПЦР для выявления гиперметилированной аллели 20-го экзона гена *EGFR* (поскольку *de novo* этот участок гипоме-

тилирован, а мутация в 790-м кодоне ACG-ATG возникает только вследствие метилирования цитозина).

**Результаты.** Оптимальным по чувствительности для выявления минорной фракции ДНК с мутацией Т790М оказался четырехэтапный метод анализа, включающий ПЦР-амплификацию, обработку специфичной к нормальной аллели рестриктазой Bsh12361, вторую ПЦР-амплификацию и детекцию с помощью обработки рестриктазой Hsp III, специфичной к мутантной аллели, и последующего агарозного электрофореза (чувствительность порядка  $1 \times 10^4$ ). Удалось также создать относительно чувствительный (чувствительность порядка  $1 \times 10^3$ ) протокол метилспецифической ПЦР для выявления гиперметилированной аллели 20-го экзона гена *EGFR*.

**Выводы.** Молекулярно-генетический анализ мутаций и статуса метилирования 20-го экзона гена *EGFR* в ДНК плазмы крови и слюны обладает достаточной чувствительностью при оптимальной специфичности и воспроизводимости. Он может быть использован в рутинной клинической практике для мониторинга приобретенной лекарственной устойчивости у пациентов, проходящих лечение препаратами Иресса и Тарцева.

## А. С. Белохвостов<sup>1</sup>, В. М. Фениксов<sup>2</sup>, А. А. Абрамов<sup>1</sup>, О. В. Горючева<sup>1</sup>, А. Р. Зарецкий<sup>1</sup>, А. Г. Румянцев<sup>1</sup> НЕИНВАЗИВНЫЙ МОНИТОРИНГ РАДИО- И ХИМИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ АНАЛИЗОВ

<sup>1</sup>ФГУ ФНКЦ ДГОИ Росздрава, Москва

<sup>2</sup>РМАПО, Москва

**Цель исследования.** Определение возможности неинвазивного мониторинга чувствительности и устойчивости глиальных опухолей к консервативному лечению, подбор оптимальной панели генов для такого мониторинга и оптимизация техники анализа этих генов.

**Материалы и методы.** Произведен поиск литературы по маркерам радио- и химиочувствительности и устойчивости глиальных опухолей и метаанализ этой литературы. Исследован также статус генов, выбранных на основе этого анализа, в различных биологических образцах 14 пациентов с глиальными опухолями головного мозга до и в процессе лучевого и лекарственного лечения.

**Результаты.** Оптимальный набор генов для неинвазивного мониторинга чувствительности и устойчивости глиальных опухолей к лучевой терапии и лечению алкилирующими агентами включает в себя гены *p53* (мутации и статус метилирования экзонов 5-8) и *MGMT* (статус метилирования промоторной области и 5-го экзона). В слюне и плазме крови больных с глиальными опухолями регулярно обнаруживалась ДНК опухолевого происхождения, что говорит о возможности такого мониторинга. Мутационный анализ удалось оптимизировать при использовании всех реагентов отечественного производства, тогда как для анализа статуса метилирования необходимым оказалось использование ДНК-полимеразы AmpliTaq Gold (Applied Biosystems, США). Детекция результатов метилспецифической ПЦР требует специфических методов таких, как SSCP-электрофорез или рестрикционный анализ, поскольку агарозный электрофорез не позволяет получить информацию о профиле метилирования гиперметилированных последовательностей ДНК.

**Выводы.** Неинвазивный мониторинг в процессе консервативного лечения глиальных опухолей возможен и потенциально высокоинформативен; после некоторой доработки тест-системы для подобного мониторинга целесообразно использовать при проведении клинических испытаний.

Е. Г. Вакуловская, А. Н. Губин, Б. К. Поддубный,  
В. В. Кузнецов, Е. С. Вакурова, А. Н. Грицай  
ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ ЛАПАРОСКОПИЯ  
С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОМ АЛАСЕНС

## У БОЛЬНЫХ ОПУХОЛЯМИ РАЗЛИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ С МЕТАСТАТИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ БРЮШИНЫ

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

**Цель исследования.** Оценить безопасность и эффективность флюоресцентной лапароскопии (ФЛ) у больных опухолями различных локализаций с использованием фотосенсибилизатора аласенс (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», РФ) (АС), ее диагностическую ценность в раннем выявлении метастатического поражения брюшины.

**Материалы и методы.** Открытое проспективное исследование проведено 42 пациентам: 38 больных раком яичников (РЯ) 3–4-й стадий, 2 больных раком желудка, 2 – раком печени. В исследование были включены 38 женщин и 4 мужчин в возрасте от 32 до 60 лет. Всем больным РЯ ранее проведено комбинированное лечение: хирургическое + ПХТ. При гистологическом исследовании у больных РЯ выявлена папиллярная цистаденокарцинома, у больных раком желудка – аденокарцинома. Не было обнаружено признаков поражения брюшины при клиническом и инструментальном обследовании. АС в дозе 20 мг/кг веса тела больного, растворенный в 100–150 мл питьевой воды, принимался внутрь за 4 ч до ФЛ, которая выполнялась после традиционного лапароскопического осмотра в белом свете под эндотрахеальным наркозом с использованием флюоресцентно-спектроскопической установки ЛЭСА-01 (ЗАО «Биоспек», РФ).

**Результаты.** Зоны флюоресценции на брюшине были выявлены у 40 больных РЯ (95,2 %), при этом при осмотре в белом свете метастатическое поражение брюшины выявлено у 21 (52,4 %). Количество обнаруженных метастазов варьировало от 2 до 11, размеры метастазов от 3 до 9 мм, при этом даже у больных, у которых метастатическое поражение брюшины было выявлено при обычном лапароскопическом исследовании, часть метастазов была обнаружена только при ФЛ. Флюоресцентная контрастность на границе «опухоль/норма» варьировала от 2,4 : 1 до 4,8 : 1. Щипцовые биопсии (216) были выполнены из всех выявленных зон флюоресценции и из нефлюоресцирующих участков брюшины, при морфологическом исследовании верифицирована опухоль у 38 больных в 96 % биоптатов.

**Выводы.** Результаты наших исследований показывают, что ФЛ с АС позволяет получать диагностически значимую информацию у больных опухолями различных локализаций, выявлять раннее метастатическое поражение брюшины, определять субклинические очаги, оценивать границы распространения процесса с высокой чувствительностью (91 %) и специфичностью по сравнению с традиционной лапароскопией (61,5 %).

## Е. Г. Вакуловская, В. Б. Карахан, В. А. Алешин ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА С ПРЕПАРАТОМ АЛАСЕНС У БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНЫМИ И МЕТАСТАТИЧЕСКИМИ ОПУХОЛЯМИ МОЗГА

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

**Цель исследования.** Разработать и апробировать методы интраоперационной флюоресцентной диагностики (ФД) у больных первичными и метастатическими опухолями мозга с использованием отечественного фотосенсибилизатора аласенс (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва, РФ) (АС).

**Материал и методы.** Открытое проспективное исследование проведено 5 пациентам: 2 больным рецидивами глиобластомы мозга после хирургического лечения и 3 – метастазами рака почки (1 большой), рака легкого (1 большой), меланомы (1 большой) в головной мозг. В исследование были включены 1 женщина и 4 мужчин в возрасте от 42 до 63 лет. АС в дозе 20 мг/кг веса тела больного, растворенный в 100–150 мл питьевой воды, принимался внутрь за 3 ч до начала эндотрахеального наркоза. ФД выполнялась интраоперационно через 4–6 ч после введения препарата АС с использованием флюоресцентно-спектроскопической установки ЛЭСА-01 (ЗАО «Биоспек», РФ), источником излучения в которой является гелий-неоновый лазер (длина волны 633 нм). Определялись спектр с анализом его по форме и амплитуде сигнала и интегральная интенсивность флюоресценции АС в разных точках опухоли, прилегающей к ней ткани мозга, неизмененных участках мозга, определялись флюоресцентные границы зоны поражения, а также оценивалась интенсивность флюоресценции нормальной кожи руки, лица и слизистой нижней губы пациентов. Определялся также

флюоресцентный контраст – соотношение между значениями интенсивности флюоресценции в опухоли и нормальной ткани. Для ФД использовались торцевые волоконно-оптические катетеры.

**Результаты.** Зоны флюоресценции в головном мозге были выявлены у 4 больных, размеры образований варьировали от 1,3 до 7,0 см. Интенсивность флюоресценции у больных рецидивами глиобластомы была существенно выше, чем у больных метастатическим поражением мозга. У больной меланомой интенсивность флюоресценции метастаза достоверно не отличалась от фоновой, не было получено флюоресценции некротической части рецидивной глиобластомы. При морфологическом исследовании верифицирована опухоль у всех больных.

**Выводы.** Первые результаты наших исследований показывают, что методика ФД с АС позволяет получать диагностически значимую информацию у больных как первичным, так и метастатическим поражением мозга, оценить границы распространения процесса.

И. Г. Гатауллин, С. В. Петров, Я. Ф. Шамсутдинова,  
М. Р. Гильмутдинова

## МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОГНОЗА МЕТАСТАЗОВ В КОСТИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Клинический онкологический диспансер МЗ РТ, Казань

**Введение.** Представляется актуальным изучение метастатического поражения костей у больных раком молочной железы в аспекте дифференцированного подхода к прогнозированию и соответственно более ранней диагностике костных метастазов.

**Цель исследования.** Оптимизация методов ранней диагностики и прогнозирования метастазов в кости у больных раком молочной железы.

**Материалы и методы.** Работа основана на анализе результатов клинического обследования, лабораторных методов диагностики и лечения 464 больных раком молочной железы. В зависимости от цели исследования все больные разделены на 2 группы: основную составили 248 больных раком молочной железы с синхронными и метастатическими метастазами в кости, контрольную – 216 пациентов – больные раком молочной железы без отдаленных метастазов.

**Результаты.** Выявлено, что длительность безрецидивного периода уменьшалась с увеличением размеров первичной опухоли при наличии регионарного метастазирования, в группе больных с HER-2/neu позитивным статусом и позитивным статусом по онкогену-супрессору p53. Кроме того, при множественном метастатическом поражении костей скелета гиперкальциемии и повышенный уровень щелочной фосфатазы отмечали у большего числа пациентов, чем при единичном метастазировании в кости.

Нами изучено влияние совокупности 30 факторов на прогноз при раке молочной железы, и только с 8 факторами отслежена достоверная корреляционная взаимосвязь, позволяющая распределить больных на 2 прогностические группы.

На основании полученных данных проведено математическое моделирование индивидуального прогнозирования течения заболевания у больных раком молочной железы. Анализ проводился с использованием программы Microsoft Excel и дополнительного пакета макросов. Метод был апробирован на 342 больных, достоверность его составила 97 %.

**Выводы.** Принадлежность конкретного пациента по результатам моделирования к группе неблагоприятного прогноза позволяет предложить более тщательную программу диагностических мероприятий, проведение расширенного объема обследований с большей периодичностью и в более ранние сроки, планирование адьювантной химиотерапии уже на ранних стадиях заболевания, возможность адекватного диспансерного наблюдения больных раком молочной железы.

## И. Г. Гатауллин, С. В. Петров, А. А. Валиев, А. И. Тухонов ОПТИМИЗАЦИЯ ДИАГНОСТИКИ И ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛЕЧЕНИЯ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

Клинический онкологический диспансер МЗ РТ, Казань

**Цель исследования.** Прогнозирование результатов лечения и его коррекция путем изучения клинико-иммуноморфологических параметров колоректального рака.

**Материалы и методы.** Работа основана на анализе результатов клинического обследования и лечения 76 пациентов с колоректальным раком, находившихся на лечении с 1999 по 2000 гг. При локализации опухоли в нижней и среднеампулярном отделе прямой кишки проводилась предоперационная лучевая терапия, и при поражении локорегионарных лимфатических узлов использовалась адъювантная химиотерапия. У всех пациентов, помимо стандартного гистологического исследования, удаленные препараты подвергались иммуногистохимическому исследованию, включавшему исследование экспрессии тканевых маркеров: тканевому РЭА, гену *p53*, Ki 67, протоонкогена *dcl 2*, *c-erb-B2*, фактора неангиогенеза CD31, цкр № 7.

**Результаты.** По стадии заболевания больные распределились следующим образом: 1-я стадия – 23 %, 2-я стадия – 38 %, 3-я и 4-я стадии – 33 и 6 % соответственно. Более 36 мес прожили 54 % исследованных пациентов. Экспрессия маркеров дифференцировки и пролиферации в клетках колоректального рака при иммуногистохимическом исследовании распределилась согласно таблице.

Маркер	РЭА	p53	Ki67	CD31	Vcl-2	c-erb-B2	Цкр № 7
Положительная, %	74	83	76	79	20	19	29
Умеренная, %	21	–	16	–	–	–	–
Отрицательная, %	5	17	8	21	80	81	71

**Выводы.** На исход заболевания влияют многие клинико-морфологические данные (локализация опухоли, глубина инвазии, наличие или отсутствие метастазов в регионарных лимфатических узлах, степень дифференцировки опухоли и ряд других факторов) и иммуногистохимические параметры опухолевого роста (неблагоприятные факторы: положительная реакция на *p53* и *c-erb-B2*, отрицательные экспрессия *Vcl-2*, CD31). Изучение совокупности генетических маркеров в сочетании с клиническими и патоморфологическими особенностями злокачественных новообразований дает возможность судить о прогнозе заболевания и в соответствии с его генетическими характеристиками планировать лечебную тактику.

*А. К. Голенков, Т. А. Митина, Т. Д. Луцкая, И. Н. Козарко, А. Ю. Барышников, М. В. Козлова, Е. В. Трифонова, Л. Л. Высоцкая*

### РОЛЬ СВОБОДНЫХ ЛЕГКИХ ЦЕПЕЙ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ СЫВОРОТКИ В ОПРЕДЕЛЕНИИ АКТИВНОСТИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ

*МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского, Москва*

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

**Цель исследования.** Определение концентрации свободных легких цепей (СЛЦ) иммуноглобулинов сыворотки на автоматическом анализаторе Hitachi 911 у леченных больных множественной миеломой (ММ) в зависимости от величины остаточной опухоли.

**Материалы и методы.** Метод (Freelight) основан на использовании антител к скрытым детерминантам СЛЦ (А. Bradwell). В исследование включены 20 больных множественной миеломой (ММ) III стадии. Больные были разделены на 2 группы в зависимости от объема остаточной опухоли, определяемого по концентрации парапротеина (PIg), выраженного в процентах по отношению к его исходным значениям. 1-ю группу составили 15 больных с PIg > 50 %, 2-ю – 5 с PIg < 50 %. Анализ проводили в зависимости от типа легких цепей PIg.

**Результаты.** В 1-й группе у больных с κ-типом ММ (n=11) концентрация СЛЦ-κ была в среднем 290 мг/л (18,2–1453), что значительно превышало норму 7,3 мг/л (3,3–19,4). В этой же группе у больных с λ-типом ММ (n=4) концентрация СЛЦ-λ была также значительно выше нормы – 333 мг/л (75,8–924) при норме 12,7 мг/л (5,7–26,3). Во 2-й группе больных с κ-типом ММ (n=3) концентрация СЛЦ-κ составляла 17,3 мг/л (4,9–30,7), а с λ-типом (n=2) – 23,15 мг/л (16,7–29,6). Очевидно, что в этой группе концентрация СЛЦ была близка к нормальным значениям. При анализе κ/λ-отношения СЛЦ сыворотки установлено, что у всех пациентов 1-й группы (за исключением 1) с κ-типом ММ оно превышало 1,65 (норма 0,26–1,65), а при λ-типе ММ выходило за пределы нормы (< 0,26), у 1 больного с Vj/λ ММ κ/λ было в пределах нормы. Во 2-й группе больных κ/λ-

отношение было в пределах 0,26–1,65 у 4 больных. У 1 больного этой группы с Vj/κ ММ κ/λ-отношение было больше 1,65.

**Выводы.** Метод определения СЛЦ непосредственно в сыворотке (Freelight) на нефелометре хорошо коррелировал с концентрацией PIg, определяемой электрофорезом. Несовпадение результатов Freelight и суточной протеинурии при Vj ММ может свидетельствовать о неточности последней и служить основанием для пересмотра результатов лечения. Учитывая короткое время полураспада СЛЦ и быстроту получения результатов их измерения, результаты Freelight-метода можно рассматривать как фармакодинамическую характеристику химиотерапии в реальном времени.

*А. С. Гриневич, Е. Ю. Григорьева, М. Н. Краева, О. Н. Донская, И. В. Чинарева, Н. В. Голубцова, М. Г. Найденов, Т. Ф. Кучеренко,*

*И. Н. Нечкина, П. К. Иванов*

### ОСВОЕНИЕ ПРОМЫШЛЕННОГО ВЫПУСКА РАДИОИММУНОЛОГИЧЕСКИХ НАБОРОВ ДЛЯ АНАЛИЗА ПРОСТАТА-СПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИГЕНА (ПСА) И АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА (АФП)

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

В последние годы важную роль в диагностике злокачественных опухолей, оценке их распространенности, контроле эффективности лечения онкологических больных играют иммунометрические методы определения опухолеассоциированных антигенов (ОА-Аг), таких как иммуноферментный, иммунолюминесцентный и радиоиммунологический (РИА) анализ.

Основные достоинства РИА:

высокая чувствительность, точность и воспроизводимость метода; широкий диапазон определяемых концентраций; простота процедуры определения.

Радиоиммунологические исследования в целом и, в частности, определение опухолевых маркеров на сегодняшний день в России находятся в незаслуженном забвении, несмотря на то, что в свое время было создано более 400 специализированных лабораторий. При этом в России нет отечественных производителей РИА-наборов, и такие исследования полностью зависят от импорта, что существенно увеличивает себестоимость проводимых анализов. Вместе с тем в РОНЦ им. Н. Н. Блохина имеются все необходимые для создания таких наборов условия: материально-техническая база, высококвалифицированный научный персонал, имеющий огромный опыт работы с радиоактивными материалами. Важным обстоятельством является наличие в РОНЦ собственной коллекции гибридом - продуцентов моноклональных антител (МКАТ) к ОА-Аг, опыт гибридомной технологии и медицинских испытаний диагностических наборов.

Научным коллективом лабораторий радиоизотопных методов исследования и медицинской биотехнологии НИИ ЭДнТО инициирована тема НИР по созданию отечественных РИА наборов, первым этапом которой стала разработка диагностикумов для определения уровня 2 ОА-Аг: простата-специфического антигена (ПСА) и альфа-фетопротейна (АФП).

Ранее были разработаны методы выделения и очистки антигенов, получены и отобраны пары гибридом-продуцентов МКАТ к непрерывно продуцируемым эпитомам АФП и ПСА, что позволяло рассчитывать на использование их в «сэндвич»-системе. Были оптимизированы технологии наработки и очистки МКАТ с высокой активностью, необходимой для достижения заданных характеристик создаваемых диагностикумов.

В ходе исследования были оптимизированы условия радиоактивного мечения МКАТ для каждого типа РИА-наборов, откорректированы буферные системы и подобраны условия постановки РИА-реакций. Созданные радиоиммунологические диагностикумы по своим характеристикам, таким, как чувствительность, специфичность и точность, не уступают зарубежным аналогам, что было подтверждено тестированием сыворотки крови здоровых доноров и больных с доброкачественными и злокачественными опухолями различной локализации. Диапазон определяемых концентраций составил для ПСА 0,15–50 нг/мл, для АФП 0–350 нг/мл.

В настоящее время проводится подготовка нормативно-технической документации для медико-технических испытаний диаг-

ностикумов в МЗСР РФ, результатом которых ожидается внесение данной продукции в реестр медицинских изделий и разрешение их практического применения.

*Т. Н. Заботина, А. А. Борунова, З. Г. Кадагидзе*  
**СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ  
 ПРОТОЧНОЙ ЦИТОФЛЮОРИМЕТРИИ  
 В ОНКОЛОГИИ**

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

В настоящее время очевидно, что успехи в лечении онкологических больных непосредственно зависят от уровня и точности диагностических мероприятий, в том числе от результатов проводимых клинико-лабораторных исследований. Это стало возможным, с одной стороны, в связи с разработкой и внедрением в клиническую практику современных тест-систем для определения поверхностных и внутриклеточных структур клеток и ДНК-специфичных зондов, с другой стороны, с максимальным использованием возможностей самого современного лабораторного оборудования в сочетании с компьютерным обеспечением для анализа и статистической обработки данных. Методом предпочтения в научно-практической работе современной клинико-иммунологической лаборатории сегодня является проточная цитофлюориметрия.

Проточная цитофлюориметрия имеет целый ряд достоинств: 1) анализу подвергается единичная клетка, а не группы клеток; 2) всегда есть отрицательный контроль, не зависящий от субъективного мнения исследователя; 3) скорость анализа составляет десятки тысяч клеток в секунду; 4) возможно одновременное изучение нескольких параметров в/на одной клетке, основанное на количественной оценке интенсивности флуоресценции; 5) отсутствует необходимость фрагментации исследуемого материала на отдельные субпопуляции, что значительно сокращает время приготовления образца.

В ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН метод проточной цитофлюориметрии обязателен при рутинных клинических и научных исследованиях. Так, мониторинг состояния иммунной системы больных с солидными новообразованиями включает оценку показателей клеточного иммунитета с применением двух- и трехцветного анализа поверхностных антигенов лимфоидных клеток, а также оценку функциональной активности иммунокомпетентных клеток. Иммунодиагностика гемобластозов основана на выявлении линейной принадлежности бластных клеток по экспрессии поверхностных дифференцировочных антигенов. Однако в ряде случаев (ОМЛ, ХМЛ) изучается экспрессия и функциональная активность белков круга МЛУ – Pgp, MRP-1 и др. В наших исследованиях большое внимание уделяется оценке прогностической значимости экспрессии гликопротеидов, регулирующих апоптоз. Определение уровня внутриклеточных белков Bcl-2, Вах, р53mit, маркера ядерной пролиферации Ki-67 позволяет прояснить механизмы развития лимфопролиферативного заболевания, а также совершенствовать терапевтические подходы, основанные на нормализации регуляции апоптоза в лейкозных клетках.

*Е. Н. Захарова<sup>1,2</sup>, Т. Н. Заботина<sup>1</sup>, А. В. Чудинов<sup>3</sup>,  
 А. С. Гриневич<sup>1</sup>, Д. Ю. Блохин<sup>1,2</sup>, П. К. Иванов<sup>1,2</sup>*  
**ДУХЦВЕТНЫЙ АНАЛИЗ КЛЕТОЧНЫХ  
 ПОПУЛЯЦИЙ МЕТОДОМ ПРОТОЧНОЙ  
 ЦИТОМЕТРИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ  
 ЦИАНИНОВОГО КРАСИТЕЛЯ IMD-306**

*<sup>1</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва*

*<sup>2</sup>НПЦ «МедБиоСпектр», Москва*

*<sup>3</sup>Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва*

**Введение.** Проточная цитофлюориметрия интенсивно используется в различных областях биологии и медицины, в том числе в онкологии. Мультипараметрический анализ позволяет получать информацию о наличии и сочетании нескольких антигенов на поверхности отдельных клеток, проводить популяционный и субпопуляционный анализы многокомпонентных клеточных систем. При этом необходимо использовать несколько различных флуоресцентных зондов одновременно, что дает возможность проведения двух-, трех- и многоцветного анализа одного объекта. Однако для этого весь используемый набор флуорофоров должен обладать способностью к возбуждению флуоресценции монохроматическим светом установленного

в приборе лазера (обычно 488,5 нм), и при этом каждый из них должен флуоресцировать с эмиссией вторичных квантов в узких спектральных диапазонах, определяемых конструкцией прибора (каналы регистрации флуоресценции FL1, FL2, FL3, FL4).

**Цель исследования.** Определить пригодность конъюгатов отечественных моноклональных антител (МКА) (НПЦ «МедБиоСпектр») и активной флуоресцентной метки Imd-306 (ИМБ им. В. А. Энгельгардта РАН) для двухцветного анализа субпопуляций лимфоцитов человека.

**Материалы и методы.** Использовали конъюгированные с цианиновым красителем Imd-306 МКА к Т- (анти-CD4, клон ICO-86, соотношение метка/белок = 8–10/1 моль/моль; анти-CD8, клон ICO-31, м/б = 6–10/1 М/М) и В-клеточному (анти-CD20, клон ICO-180, м/б = 5:1 М/М) рецепторам лимфоцитов человека. Для определения рабочей концентрации конъюгатов МКА/Imd-306 исследовали их активность в диапазоне конечных концентраций 0,4–4,0 мкг/мл. В качестве второго зонда использовали FITC-меченные МКА анти-CD3, клон ICO-90 (НПЦ «МедБиоСпектр»). Реакцию клеток с двойной меткой проводили как последовательно, так и параллельно. В качестве референс-контроля для определения доли антиген-позитивных клеток (%) и медианы интенсивности флуоресценции (MFI) применяли коммерческие МКА (BD Pharmingen) к тем же антигенам, меченные FITC или PE. Результаты анализа учитывали на проточном цитофлюориметре FACScan (Becton Dickinson, San Jose, CA) в режиме DotPlot (2D-диаграмма), регистрируя флуоресценцию FITC по каналу FL1, а Imd-306 и PE – по каналу FL2.

**Результаты.** Оптимальная концентрация для Imd-306-конъюгатов МКА анти-CD4 и анти-CD8 находится в диапазоне 0,8–1,7 мкг/мл при соотношении м/б = 10/1 М/М, а для анти-CD20 – в диапазоне 1,7–4,0 мкг/мл как при последовательной, так и при параллельной реакции окрашивания.

**Выводы.** По аналитическим характеристикам синтезированные конъюгаты не уступают коммерческим аналогам и могут быть использованы для двухцветного анализа клеточных популяций.

*Е. Н. Захарова<sup>1,2</sup>, Т. Н. Заботина<sup>1</sup>, А. В. Чудинов<sup>3</sup>,  
 А. С. Гриневич<sup>1</sup>, Д. Ю. Блохин<sup>1,2</sup>, П. К. Иванов<sup>1,2</sup>*  
**ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНТНЫЕ ЗОНДЫ  
 НА ОСНОВЕ МКА СЕРИИ ICO  
 И ОТЕЧЕСТВЕННОГО ФЛЮОРОФОРА IMD-306**

*<sup>1</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва;*

*<sup>2</sup>НПЦ «МедБиоСпектр», Москва;*

*<sup>3</sup>Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва*

**Введение.** Одним из наиболее информативных инструментов изучения клеточных популяций является проточная цитофлюориметрия. Возможности данного метода прямо зависят от свойств флуоресцентных зондов. Большинство специальных зондов получают конъюгированием специфических биоактивных молекул с активными формами флуорофоров. В качестве последних наиболее часто используют FITC, PE, PE-Cy5, Per-CP, APC.

В последние годы в проточной цитометрии используются и производные цианинового красителя Су3 в виде сукцинимидного эфира, который может связываться с антителами, авидином, ДНК и другими молекулами, содержащими группы первичных аминов. Эти соединения водорастворимы, мало чувствительны к изменению pH, практически не агрегируют при конъюгировании с другими молекулами, имеют приемлемые для проточных цитометров спектры возбуждения и эмиссии флуоресценции. Однако широкое использование цианиновых красителей ограничено их высокой стоимостью: эксклюзивным производителем этих флуорофоров является компания Amersham. В ИМБ им. В. А. Энгельгардта (Россия) синтезирована группа цианиновых флуорофоров, сходных по физико-химическим свойствам с Су3, в частности, соединение Imd-306.

**Цель исследования.** Оптимизация условий получения флуоресцентных зондов на основе Imd-306 и мышинных моноклональных антител (МКА) серии ICO.

**Материалы и методы.** В работе использованы мышинные МКА (НПЦ «МедБиоСпектр», Россия) к В- (CD20, клон ICO-180) и Т-клеточным (CD4, клон ICO-86; CD8, клон ICO-31) рецепторам лимфоцитов человека, сукцинимидный эфир цианинового красителя Imd-

306. Специфическую активность конъюгатов оценивали в прямой реакции поверхностной иммунофлюоресценции с последующим анализом на проточном цитофлюориметре FACScan (Becton Dickinson, San Jose, CA) и регистрацией флюоресценции по каналу FL-2. Для сравнительной характеристики доли антиген-позитивных клеток в популяции (%) и медианы интенсивности флюоресценции (MFI) применяли коммерческие МКА к тем же антителам, конъюгированные с FITC и PE (BD Pharmingen, Caltag).

**Результаты.** Получены конъюгаты МКА и Imd-306 с различным соотношением краситель/белок. Показано, что оптимальным соотношением метки и иммуноглобулина для конъюгата CD20/Imd306 является 5:1 (моль:моль), для конъюгатов CD4/Imd306 и CD8/Imd-306 – в диапазоне 8-10:1 и 6-10:1 (моль:моль) соответственно.

**Выводы.** Конъюгирование флюоресцентного красителя Imd-306 с МКА в оптимальных соотношениях не оказывало сколько-нибудь заметного влияния на иммунохимические свойства последних, что позволяет рекомендовать синтезированные конъюгаты для цитометрического анализа клеточных популяций.

*В. Д. Копачевский, А. В. Качинский, А. Н. Кузмин, П. Н. Прасад*  
**РАМАНОВСКАЯ МИКРОСПЕКТРОСКОПИЯ  
 И КАРС МИКРОСКОПИЯ  
 ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ**  
 ООО «Промэнерголаб», Москва

Прогресс современной клеточной биологии и медицины непосредственно связан с методами и оборудованием, позволяющими проводить бесконтактный структурный анализ биологических образцов и протекающих в них процессов в реальном времени и с высоким пространственным разрешением. Оптическая лазерная микроскопия обладает неоспоримыми преимуществами и успешно дополняет существующие физико-химические, радиационные, электронно-лучевые методы анализа. Конфокальная флюоресцентная лазерная микроскопия в сочетании с достижениями в нанопотонике и синтезе флюоресцентных биомаркеров позволяет изучать состав и структурные превращения клетки. Для биологических образцов, которые не флюоресцируют и биологически не совместимы с внедряемыми флюоресцентными метками в силу токсичности последних в качестве контрастного механизма формирования сигнала могут быть использованы молекулярные колебательные свойства органических соединений, входящих в состав биологических объектов.

Одними из перспективных и интенсивно развивающихся в настоящее время направлений оптического анализа биологических объектов на клеточном уровне, основанными на характерных колебательных резонансах, являются Рамановская микроспектроскопия и микроскопия спонтанного рамановского рассеяния (СРР) и Когерентного анти-стоксового рамановского рассеяния (КАРС). В отличие от СРР с присущими ему ограничениями ввиду малой интенсивности сигнала и большой величины аутофлюоресцентного фона КАРС-отклик среды нелинейно зависит от мощности возбуждающего сигнала, и, как минимум, на 5 порядков превышает сигнал СРР.

В настоящем сообщении обсуждаются возможности оптических методов активного и спонтанного Рамановского рассеяния для бесконтактного, неразрушающего структурного клеточного анализа, и приборные средства для биологии и медицины, основанные на лазерной микроспектроскопии и сканирующей лазерной микроскопии СРР и КАРС. Широкое применение методов связано с перспективами в изучении меж- и внутриклеточных взаимодействий, изучении селективных процессов, происходящих на уровне мембраны, цитоплазмы, липидов, ядра и присущих ему РНК и ДНК взаимодействий.

*В. Г. Лихванцева, И. А. Новиков, Е. А. Осипова*  
**ИЗУЧЕНИЕ СПЕКТРАЛЬНОЙ  
 СОСТАВЛЯЮЩЕЙ АУТОФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ  
 КОЖИ И СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК  
 В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ**

ГУ НИИ глазных болезней РАМН, Москва

**Введение.** Аутофлюоресценция кожи несет информацию о химическом составе эпидермиса и дермы, количестве и кровенаполнении сосудов, пространственном распределении хромофоров и флюорофоров внутри кожи, их концентрации, а также об интенсивности метаболических процессов, происходящих в коже. Многие патологиче-

ские процессы в коже, включая опухолевые, протекающие с изменением метаболизма и кровенаполнения, могут привести к качественным и количественным изменениям аутофлюоресценции.

**Цель исследования.** Изучить спектральную составляющую аутофлюоресценции кожи и слизистых оболочек в норме и при развитии в них опухолей.

**Материалы и методы.** Количественную оценку составляющей спектров флюоресценции эндогенных флюорофоров в суммарном спектре аутофлюоресценции проводили по собственной оригинальной методике, спектроскопию – на ЛЭСА-«Биоспекс»(632,8 нм).

**Результаты.** Установлено, что суммарный спектр в диапазоне 650-800 нм при  $\lambda_{ex}=632,8$  нм более, чем на 97 %, составляют спектры коллагена, кератина и порфиринов. Из этого следует, что любой произвольный спектр моделируется суммой 2 спектров-эталонов, взятых с разными коэффициентами. 1-м эталоном может выступать нативный спектр коллагена или тождественный ему спектр кератина, 2-м – спектр водного раствора синтетического ПП IX. При вычислении долевого участия ПП IX в формировании произвольного суммарного спектра критерием оценки может служить максимальная корреляция между произвольным суммарным спектром и модельным. Вклад флюоресценции ПП IX в суммарный спектр аутофлюоресценции, полученный с различных участков тела, различался. Так, в коже руки удельная доля спектра ПП IX составила 8,7 %, в коже век – 13,2 %, в слизистой губы – 18,4 %, в слезном мясе – 32,5 %. В ткани базальноклеточного рака кожи века удельная доля спектра ПП IX составила 31,0 %, в ткани интрадермального невуса этот же показатель не превышал 8,0 %. Таким образом, удельная доля спектра ПП IX в злокачественных новообразованиях достоверно превышала удельную долю ПП IX в нормальной коже интактного века.

**Выводы:** Проведенные исследования позволяют считать, что вычисление доли спектра ПП IX в суммарном спектре аутофлюоресценции может быть использовано в дифференциальной диагностике новообразований кожи и слизистых оболочек.

*В. Г. Лихванцева, Е. А. Осипова, И. А. Новиков*  
**ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫЙ СПЕКТРАЛЬНЫЙ  
 АНАЛИЗ В ДИАГНОСТИКЕ  
 НОВООБРАЗОВАНИЙ КОЖИ ВЕК**

ГУ НИИ глазных болезней РАМН, Москва

**Введение.** Флюоресцентная диагностика (ФД) с использованием фотосенсибилизаторов (ФС) является одной из перспективных и надежных диагностических технологий обнаружения опухолей кожи. ФД проводится на основе анализ флюоресцентных изображений новообразований.

**Цель исследования.** Изучить возможности метода дифференциального спектрального анализа с использованием флюоресцентных изображений в диагностике новообразований кожи век.

**Материалы и методы.** Наблюдали 28 пациентов с новообразованиями кожи век (11 – с базальноклеточным раком (БКР), 6 – с интрадермальными невусами, 3 – с кожным рогом, 3 – со слабопигментированной меланомой и 5 – с гемангиомой). Пациенты *per os* получали препарат 5-аминолевулиновой кислоты (аласенс) в дозе 15 мг на кг массы тела. Используя в качестве источника возбуждающего излучения люминесцентные лампы (433 нм), с помощью цифровой камеры получали трехканальное (RGB) изображение. Вычисляли удельную долю цветового канала, содержащего информацию о флюоресценции протопорфирина IX (R %). Затем рассчитывали разницу (колориметрический отход) между R % в новообразовании и R % в окружающих тканях ( $\Delta R$ ). Обработку производили с помощью оригинального программного обеспечения CancerPlot.

**Результаты.** Отмечается статистически достоверная разница  $\Delta R$  для беспигментных доброкачественных и злокачественных новообразований. Так  $\Delta R$  при базальноклеточном раке колеблется в диапазоне от +8,4 % до +24,3 %, а при беспигментных интрадермальных невусах не превышает +1,5 %. Значения  $\Delta R$  при гемангиомах принимали нулевые либо слабые отрицательные (–0,5 %). Основание кожного рога характеризуется высокими положительными значениями, соизмеримыми с БКР (от +12,7 % до +15, %), в то время, как его апикальная часть (гиперкератоз) – отрицательными значениями (от –10,6 % до –9,8 %). Аналогичная картина наблюдалась при меланоме кожи века: периферическая часть новообразования (зона роста?) характеризова-

лась слабоположительными значениями (от +3,1 % до +5,0 %), а центральная её часть – слабоотрицательными (от -3,1 % до 2,5 %).

**Выводы.** Метод ДСА может быть использован в дифференциальной диагностике новообразований кожи.

*В. Г. Лихванцева, О. А. Анурова, М. В. Верещagina*  
**РОЛЬ МАРКЕРА NM-23 В ПАТОГЕНЕЗЕ  
 УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМЫ**

*ГУ НИИ глазных болезней РАМН, Москва  
 ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва*

**Введение.** Роль белка nm23 в патогенезе неопластических процессов еще не ясна. Установлено, что в некоторых опухолях клетки с высоким метастатическим потенциалом утрачивают экспрессию nm23 или экспрессируют этот протеин на низком уровне. В качестве биологических функций за белком nm23 признаны: супрессия метастазирования, участие в опухолевой дифференцировке и клеточной пролиферации.

**Цель исследования.** Изучить роль nm23 в патогенезе увеальной меланомы (УМ).

**Материалы и методы.** Проводили ИГХ-исследования на 50 архивных парафиновых блоках УМ с маркером nm23 (фирма DAKO). Результаты оценивали по уровню и частоте экспрессии. Выделяли слабую, умеренную и выраженную экспрессию или ее отсутствие. Для выявления коррелятивных связей между ИГХ-данными и метастазированием проводили анализ выживаемости по Каплан-Мейеру среди пациентов с диаметрально противоположными значениями экспрессии белков.

**Результаты.** Экспрессия nm23 имела место в 34 случаях (68 %) из 50 тестируемых УМ. Синтез белка происходил в ядрах клеток УМ одинаково часто у мужчин и женщин. Амплитуда экспрессии увеличивалась по мере увеличения возраста пациента (коэффициент корреляции  $k=0,30$ ,  $p=0,034$ ). Экспрессия nm23 усиливалась по мере того, как в опухоли увеличивалось количество эпителиоидных клеток ( $k=0,31$   $p=0,033$ ). Достоверно чаще маркер отсутствовал там, где была слабее атипия (I степень,  $p<0,05$ ). Амплитуда экспрессии белка усиливалась по мере прогрессирования заболевания. Синтез белка тесно коррелировал с уровнем пигментации опухоли: его частота и уровень экспрессии нарастали по мере усиления степени пигментации опухоли; достоверно чаще слабо пигментированные опухоли давали негативную реакцию с маркером. В то же время в умеренно и густо пигментированных опухолях чаще и на более высоком уровне происходила (умеренная + выраженная) экспрессия nm23 ( $p<0,0001$ ).

Статистически значимые различия в показателях 3- и 5-летней выживаемости по Каплан-Мейеру в группах пациентов с nm23-позитивной УМ и nm23-негативной УМ не выявлены.

**Выводы.** Проведенные исследования позволяют считать, что белок-регулятор nm23 определенно вносит свой потенциал в прогрессирование. Об этом свидетельствует коррелятивная связь уровня его экспрессии с прогрессированием УМ. Однако возможность прогнозирования исходов УМ на основе экспрессии nm23 не доказана.

Вероятно, более перспективны исследования экспрессии nm23 в комплексе с другими молекулярно-биологическими маркерами. Они могут предоставить дополнительную информацию с уточнением его роли в прогрессировании и способствовать разработке новых стратегий диагностики, прогнозирования и лечения УМ.

*В. Г. Лихванцева, О. А. Анурова, М. В. Верещagina*  
**СПОСОБ ОДНОВРЕМЕННОЙ ДИАГНОСТИКИ  
 И ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ИСХОДА  
 НЕОПЛАСТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА  
 ПРИ УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМЕ**

*ГУ НИИ глазных болезней РАМН, Москва  
 ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва*

**Введение.** Согласно стандартам ИГХ-диагностики все меланомы верифицируются на основании позитивной реакции с меланоцитарными маркерами и маркером S-100. При этом вопрос о чувствительности и специфичности меланоцитарных маркеров при увеальной меланоме (УМ) широко дискутируется.

**Цель исследования.** Поиск наиболее надежных, чувствительных и специфичных маркеров в ИГХ-диагностике и прогнозе УМ.

**Материалы и методы.** Проводили ИГХ-исследования на 83 парафиновых блоках УМ. В качестве маркеров использовали S-100, меланин-A, HMB45, MITF и тирозиназу (фирмы DAKO и NOVOCASTRA). Результаты ИГХ оценивали по уровню и частоте экспрессии. Выделяли слабую, умеренную и выраженную экспрессию или ее отсутствие. Проводили многофакторный корреляционный анализ. Связь между ИГХ-данными и исходами заболевания анализировали по выживаемости по Каплан-Мейеру среди пациентов с диаметрально противоположными значениями экспрессии белков.

**Результаты.** Все меланоцитарные маркеры обладали высокой специфичностью и примерно равноценной чувствительностью: специфичность MITF достигала 100 %, чувствительность – 98 %; тирозиназы – 100 % и 98,6 % соответственно. HMB-45, как и меланин-A, позволял в 100 % случаев распознать УМ. Однако экспрессия меланина-A в УМ была слабой. Это затрудняло визуализацию ИГХ-реакции в клетке. Повысить надежность ИГХ-метода можно было, включив в панель сразу несколько меланоцитарных маркеров. Обоснованность приема доказывалась статистически: в УМ, гиперэкспрессирующих HMB-45 (+++), имела место гипоэкспрессия (+) меланина-A ( $p<0,1$ ). Мы объяснили это тем, что маркеры отражали разные стадии меланогенеза. Роль всех тканедифференциальных маркеров в прогнозе УМ проверяли на архивных блоках. Оказалось, что почти все тканедифференциальные маркеры не пригодны для прогнозирования исходов неопластического процесса. Исключение составил S-100. Его экспрессия имела обратно пропорциональную высоко достоверную корреляционную связь со степенью малигнизации опухолевых клеток. Экспрессия S-100 ослабевала по мере снижения тканевой дифференцировки ( $p=0,05$ ). Уровни экспрессии S-100 коррелировали исходами заболевания. Выявленный факт позволял использовать количественные показатели экспрессии S-100 в качестве самостоятельного, независимого фактора прогноза, позволяющего с высокой степенью достоверности (95 % совпадений) осуществлять параллельно с диагностикой отбор пациентов в группу риска развития метастазов.

**Выводы.** Панель маркеров для одновременной ИГХ-диагностики УМ должна включать S-100, а также меланоцитарные маркеры меланина-A и HMB45, отражающие разные стадии меланогенеза, при этом количественные показатели S-100 могут служить самостоятельным фактором прогноза.

*В. Г. Лихванцева, О. А. Анурова, М. В. Верещagina*  
**РОЛЬ МЕСТНЫХ КЛЕТОЧНЫХ РЕАКЦИЙ  
 ИММУННОГО ОТВЕТА  
 В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ИСХОДА  
 НЕОПЛАСТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА  
 ПРИ УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМЕ**

*ГУ НИИ глазных болезней РАМН, Москва  
 ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва*

**Введение.** Известно, что клеточные реакции иммунного ответа играют важную роль при злокачественных солидных опухолях. Количественные и качественные показатели инфильтрирующих опухоль лимфоцитов порой предопределяют исход заболевания. Однако когда речь идет об опухолях забарьерных органов, таких, как глаз, мнения исследователей расходятся, в связи с чем целью нашей работы было: изучить роль местных клеточных реакций иммунного ответа в прогнозировании исхода неопластического процесса при увеальной меланоме (УМ).

**Материалы и методы.** Проводили ИГХ на 78 парафиновых блоках УМ. В качестве маркеров использовали CD68 и LCA/CD45 (разведение 1: 100, фирма DAKO). Результаты ИГХ оценивали по уровню и частоте экспрессии. Выделяли слабую, умеренную и выраженную экспрессию или ее отсутствие. Проводили многофакторный корреляционный анализ. Для выявления коррелятивных связей между ИГХ-данными и исходами заболевания (метастазированием и смертностью) проводили анализ выживаемости по Каплан-Мейеру среди пациентов с диаметрально противоположными значениями экспрессии белков.

**Результаты.** Доказано, что инфильтрация УМ макрофагами (CD68) является сигналом неблагоприятного исхода заболевания. Экспрессия CD68 ( $n=78$ , 86,7 % экспрессии) усиливалась по мере роста площади основания опухоли, повышения в УМ количества со-

судов, усиления ядерной и клеточной атипии опухолевых клеток. Каждый из перечисленных признаков – атрибут усиления малигнизации опухоли, а, следовательно, событие, приводящее к ухудшению витального прогноза. Это объясняет, почему гиперэкспрессия CD68 ассоциируется с повышением риска развития летального исхода при УМ ( $k=0,2440$ ,  $p=0,1$ ). Однако достоверной разницы в показателях выживаемости по Каплан-Мейеру мы не получили. Более значимым в прогнозе УМ оказался другой тип иммунокомпетентных клеток – CD45. Инфильтрация УМ клетками, маркирующимися CD45 ( $n=78$ , 85, 5% экспрессии), нарастала параллельно с усилением агрессивности УМ (с усилением васкуляризации, митотической активности, ядерной и клеточной атипии). Избыток клеток в опухоли с иммунофенотипом CD45 ассоциировался с высокой степенью риска летального исхода ( $k=0,2265$ ,  $p=0,1$ ). Вероятность совпадений прогноза по CD45 – 90%.

**Выводы.** Несмотря на то, что усиление клеточных реакций иммунного ответа в виде инфильтрации опухоли иммунокомпетентными клетками в целом носит положительный характер, для УМ это ассоциируется с плохим витальным и клиническим прогнозом. По-видимому, это связано с нарушением гематоофтальмического барьера, вызванного опухолью, выходом опухолевых клеток в периферическое русло и представлением их АГ иммунной системе с последующим развитием местных клеточных реакций иммунного ответа.

*Г. З. Мухаметшина, Р. Ш. Хасанов, И. А. Гилязутдинов, К. Т. Шакиров*

### КОРРЕЛЯЦИЯ ФАКТОРОВ ПРОГНОЗА С КЛИНИЧЕСКИМ ТЕЧЕНИЕМ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

*Клинический онкологический диспансер МЗ РТ, Казань*

Задачи исследования – выявление неблагоприятных факторов прогноза у больных раком молочной железы и назначение патогенетически обоснованной терапии.

Абсолютное число заболевших и умерших в России в 2004 г. составило почти 48 тыс. и 23 тыс. соответственно. К группе традиционных прогностических факторов РМЖ относятся возраст, менструальный статус, размер первичного очага, количество пораженных лимфоузлов, стадия заболевания и гистологический тип опухоли; к неблагоприятным признакам – низкая дифференцировка опухоли, инвазия опухолевыми клетками лимфоидных и кровеносных сосудов. Клинические и морфологические характеристики болезни являются недостаточно точными для предсказания прогноза течения болезни и эффекта химиотерапии. На 1-е место в прогнозировании течения опухолей выходит молекулярная морфопатология, которая учитывает наличие / отсутствие онкогенов и супрессоров опухолевого роста. Определение геномных нарушений, детерминирующих развитие опухоли, степень её злокачественности, метастатический потенциал и скорость прогрессии являются приоритетными в современной онкологии.

Определение молекулярно-биологических маркеров в ткани опухоли может давать дополнительную информацию о скорости ее роста, способности к инвазии и метастазированию, устойчивости к химиопрепаратам.

Имуногистохимическое определение белков в клетках совпадает с данными, полученными при использовании методов определения изменений на геномном уровне.

Исследование прогностических маркеров в комплексе с клиническими данными поможет выбрать наиболее эффективные методы лекарственной терапии индивидуально.

Нами обследованы 356 больных раком молочной железы, у которых были определены гормональный статус (эстрогены / прогестерон), HER-2/neu и другие прогностические факторы. Среди них положительный статус по HER-2/neu был у 88 пациенток, отрицательный – у 268. Это позволило выбрать оптимальные методы лечения для каждой пациентки в зависимости от того или иного прогностического фактора. Неoadъювантную химиотерапию получили 33 пациентки, лучевую терапию (предоперационную или послеоперационную) – 441, адъювантную химиотерапию – 286, гормональную терапию – 86. Исследование продолжается.

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СКОРОСТИ ПРИРОСТА И ВРЕМЕНИ УДВОЕНИЯ ПСА В ОЦЕНКЕ ПРОГНОЗА ГОРМОНОТЕРАПИИ РПЖ

*Онкологический диспансер №3, Москва*

**Задачи исследования.** Оценить целесообразность использования определения времени удвоения ПСА (PSA-DT) и скорости прироста ПСА (PSA-V) у больных, получающих гормонотерапию РПЖ, определить корреляцию с объективными признаками прогрессирования и развития резистентности, а также показатели прогноза прогрессии РПЖ.

**Материалы и методы.** 64 пациента с РПЖ наблюдались в ОД № 3 г. Москвы. Распределение по степени распространенности РПЖ: локализованный – 19 (29,7%) больных, местнораспространенный – 19 (29,7%), генерализованный – у 26 (40,1%) больных. ГТ проводилась в период с 06.1993 по 11.2006 г. Возраст больных колебался от 56 до 81 года, средний возраст составил  $68,8 \pm 7,37$  года, медиана – 69,5 год, интерквартильный размах – 63–74 года.

У больных РПЖ определяли при ПРИ, ТРУЗИ. Морфологическая верификация больных получена при биопсии ПЖ. Опухолевое поражение одной доли ПЖ выявлено у 36 (54,3%) больных, обеих долей – у 28 (43,7%). По степени дифференцировки (по шкале ВОЗ) у 23 (35,9%) больных определяли высокодифференцированные (G1) опухоли, у 18 (28,2%) – умеренно-дифференцированные (G2) и у 23 (35,9%) – низкодифференцированные (G3). Уровень ПСА у больных в группе ГТ колебался от 4,35 до 198 нг/мл, средний уровень составлял  $72,3 \pm 18,8$  нг/мл, медиана уровня ПСА – 35,4 нг/мл, интерквартильный размах – 23,1–99,2 нг/мл. При определении связи между уровнем ПСА и клинической стадией у больных в группе ГТ выявлена сильная прямая корреляция (коэффициент корреляции  $R=0,76$ ,  $p<0,001$ , метод Спирмена). При сравнении уровня ПСА в подгруппах больных с интра- и экстракапсулярными опухолями также выявлены статистически достоверные различия ( $p<0,001$ , критерий U Манна-Уитни). 33 (51,9%) больных проводили непрерывную ГТ, 31 (48,1%) – интермиттирующую ГТ. При сравнении подгруппы непрерывной и интермиттирующей ГТ не отмечено статистически достоверных различий между числом больных с интра- и экстракапсулярными опухолями ( $p=0,3$ , метод  $\chi^2$  Пирсона). При сравнении степени дифференцировки опухоли также не выявлено статистически достоверных различий между подгруппами интермиттирующей (ИТГТ) и непрерывной ГТ (НГТ) ( $p=0,24$ , метод  $\chi^2$  Пирсона). Подгруппы непрерывной и интермиттирующей терапии оказались однородными и по уровню ПСА, различий между концентрацией ПСА в обеих подгруппах не выявлено ( $p=0,16$ , критерий U Манна-Уитни).

**Результаты.** PSA-DT, PSA-V коррелированы с T-стадией ( $P=0,000$ ), дифференцировкой РПЖ ( $P=0,000$ ), суммой баллов по Глиссону ( $P=0,005$ ), со временем смерти ( $P=0,000$ ), временем объективного прогрессирования ( $P=0,003$ ), уровнем первичного ПСА ( $P=0,03$ ), временем развития резистентности ( $P=0,002$ ). Первичное определение влияния на общую выживаемость (ОВ) по результатам анализа: чем короче PSA-DT и выше PSA-V, тем вероятнее снижение ОВ.

**Выводы.** PSA-V и PSA-DT, независимо друг от друга, в мониторинге течения РПЖ являются предикторами прогрессирования заболевания. Контроль за временем удвоения ПСА и скоростью прироста ПСА позволит определить резистентность РПЖ и своевременно выбрать другой вариант лечения. В группах ИТГТ и НГТ различия в выживаемости и развитии резистентности выявлено не было.

### КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ТОПОИЗОМЕРАЗЫ-II- А И P21/WAF1 НЕОБХОДИМА ПЕРЕД НАЗНАЧЕНИЕМ ТЕРАПИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

*Клинический онкологический диспансер МЗ РТ, Казань*

*Казанский государственный медицинский университет, Казань*

**Введение.** Хорошо известно, что топоизомераза-II- $\alpha$  представляет собой мишень для препаратов ряда антрациклина, а эффективность терапии антрациклинами зависит от уровня экспрессии топоизомераза-II- $\alpha$ . В то же время результат химиотерапии таксанами сильно зависит от уровня экспрессии и активности p21/waf1.

**Цель исследования.** Разработка и апробирование комплексного подхода к анализу экспрессии и активности p21/waf1, а также уровня топоизомеразы-II- $\alpha$ .

**Материалы и методы.** Были изучены 23 случая с известной позитивной иммуногистохимической реакцией на HER2 (++ и +++ по критериям HercepTest), где проводился анализ амплификации гена (FISH и CISH), а также иммуногистохимическое морфометрическое исследование E-кадгерина, CD44v6, p21/waf1, топоизомеразы-II- $\alpha$ , Ki-67 при помощи морфометрической станции Leica CTR5000 и программы Leica Qwin Plus. Оценивались поля зрения при увеличении  $\times 200$  (2000 клеток) с максимальной экспрессией данного маркера, минимальной и средней экспрессией. Вычислялся средний процент позитивных опухлевых клеток. Далее сравнивались полученные относительные величины каждого маркера. Мы не применяли методов вариационной статистики, так как имели право производить арифметические действия между относительными величинами, анализировались серийные срезы, экстраполяция результата каждого маркера осуществлялась на весь срез. Точный подсчет процента экспрессии маркеров в каждой опухоли на серийных срезах позволял делать выводы об активности p21/waf1, уровне экспрессии топоизомеразы-II- $\alpha$ , процентном распределении раковых клеток в клеточном цикле.

**Результаты.** Процент раковых клеток, экспрессирующих p21/waf1 сопоставлялся с уровнем экспрессии Ki-67 в каждой опухоли. Ki-67 окрашивает клетки, находящиеся в поздней G1 фазе клеточного цикла, а также в S-, G2- и M-фазах. При исследовании на p21/waf1 учитывался характер иммуногистохимической реакции: цитоплазматическая, ядерная или смешанная. Цитоплазматическая реакция может свидетельствовать о 2 вариантах: либо белок p21/waf1 не активен и не выполняет своей функции ингибитора циклин-зависимых киназ, либо p21/waf1 активен и клетка находится в S-фазе клеточного цикла. Ядерная реакция указывает на то, что, во-первых, белок p21/waf1 активен, а во-вторых, клетка находится в G1- или G2-фазах клеточного цикла. Оказалось, что при сверхэкспрессии HER2 может наблюдаться несколько вариантов статуса опухоли по белку p21/waf1: активное состояние (17 % случаев), неактивное (13 % наблюдений), смешанное состояние – 43 % случаев (в опухоли одни раковые клетки были с активным p21/waf1, другие – с неактивным) и потеря экспрессии p21/waf1 (27 % наблюдений). Анализ экспрессии топоизомеразы-II- $\alpha$  (которая также сопоставлялась с уровнем экспрессии Ki-67) показал, что ее нормальный уровень и сверхэкспрессия наблюдается в 39 %, а сниженная экспрессия – в 61 % случаев. Анализ молекул адгезии также выявил различные состояния их экспрессии.

**Вывод.** Сравнительная количественная иммуногистохимическая оценка p21/waf1, топоизомеразы-II- $\alpha$ , Ki-67 может стать методом выбора для предсказания эффективности антрациклинов и таксанов в лечении рака молочной железы.

*Д. В. Соколов<sup>1</sup>, А. Н. Махсон<sup>1</sup>, С. Г. Кузьмин<sup>2</sup>, Г. Н. Ворожцов<sup>2</sup>*  
**СОВРЕМЕННАЯ ЦИФРОВАЯ  
 ДЕРМАТОСКОПИЯ В ОНКОДЕРМАТОЛОГИИ**

<sup>1</sup>Московская городская онкологическая клиническая больница № 62, Москва

<sup>2</sup>ГУП «МНКЦ «Интермедбиофизхим», Москва

В настоящее время дерматоскопия (эпилуминисцентная микроскопия, дермоскопия, поверхностная микроскопия кожи) является одним из основных методов неинвазивной диагностики меланомы кожи в ведущих онкодерматологических клиниках Европы, Австралии и Америки. Использование компьютерных технологий позволило создать дерматоскопическое оборудование для автоматического распознавания меланомы.

В Московской городской онкологической больнице № 62 совместно с ГУП «МНКЦ «Интермедбиофизхим» проходит клиническую апробацию медицинский прибор FotoFinder Dermoscope II (Германия) для дерматоскопического исследования у пациентов с пигментными новообразованиями кожи.

В настоящее время обследованы 39 пациентов с 93 пигментными новообразованиями кожи. Всем больным выполнялись панорамные снимки кожных покровов с последующей маркировкой выявленных подозрительных пигментных новообразований кожи. Затем было проведено дерматоскопическое исследование каждого выделенного

пигментного новообразования (93) с использованием автоматической экспертной оценки («Mole Analyzer»).

Проведенная клиническая апробация продемонстрировала большие потенциальные возможности применения FotoFinder Dermoscope II с программным обеспечением «Mole Analyzer» в клинической практике, особенно при осмотре и динамическом наблюдении пациентов из группы риска.

*В. А. Тронов, А. Д. Козлова, Л. Ю. Дедерер, А. Г. Кедрова, Л. Б. Горбачева*

**РОЛЬ КОРРЕКЦИОННОЙ РЕПАРАЦИИ ДНК (MMR) В КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ**

*Институт химической физики им. Н. Н. Семенова РАН, Москва*

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

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

Тотальная репарационная способность – широко распространенный фенотипический маркер предрасположенности к возникновению злокачественных новообразований. Оценка этого показателя предполагает использование в клеточной системе *in vitro* challenge-мутагена, позволяющего проявить латентную генетическую нестабильность и репаративную недостаточность в тестируемых клетках. Традиционно в таких исследованиях используются 2 показателя мутагенной чувствительности: хромосомные aberrации и генотоксический эффект (метод ДНК-комет). 5 механизмов репарации ДНК вносят свой вклад в тотальную репаративную способность клетки: прямая ферментативная инактивация повреждений, эксцизионная репарация нуклеотидов, эксцизионная репарация оснований, коррекционная репарация (MMR) и репарация двуниевых разрывов (ДР). Большая группа онкопатологий связана с дефицитом MMR: колоректальный рак, рак яичников, рак тела матки и некоторые другие. Для этих опухолей пониженный уровень активности MMR может служить биомолекулярным маркером заболевания. Мы разработали методику оценки функциональной активности MMR в клетках. Она основана на определении количества вторичных ДР ДНК в клетках, пульс-обработанных challenge-мутагеном метилнитрозомочевинной (МНМ). Мутаген метилирует основания в ДНК. Вторичные разрывы образуются в результате процессинга метилированного основания Об-метилгуанина при функционировании активной коррекционной репарации в пострепликативный период. Таким образом, вторичные ДР позволяют количественно определить активность MMR в клетке и в конечном счете оценить связь между активностью MMR в лимфоцитах и риском развития заболевания. Это представление проверено на MMR-дефицитных колоректальных опухолях человека, а также на лимфоцитах здоровых доноров и больных раком яичников и тела матки. Цитотоксический эффект МНМ (апоптотическая гибель лимфоцитов) оценивался 2 показателями: взаимодействием с комплексом аннексин V-FITC и по морфологическим изменениям ядра клеток после их окрашивания смесью 2 ДНК-тропных красителей. Генотоксический эффект МНМ (вторичные ДР ДНК) определялся с помощью метода нейтральных ДНК-комет, модифицированного для подсчета комет, характерных только для делящихся лимфоцитов, меченых BrUdr. Доля таких комет отражала индекс пролиферации клеток. Показано, что покоящиеся лимфоциты были устойчивы к гено- и цитотоксическому эффектам МНМ. В пролиферирующих клетках в ответ на действие МНМ формировались вторичные разрывы ДНК ( $p \leq 0,01$ ) и возростала частота апоптотических клеток ( $p \leq 0,05$ ). Генотоксический эффект МНМ на стимулированных лимфоцитах больных раком яичников и тела матки был в 4 раза ниже, чем на лимфоцитах здоровых доноров. В лимфоцитах больных не изменялся пролиферативный индекс в ответ на действие МНМ, а в лимфоцитах здоровых доноров наблюдалось снижение этого показателя в 2 раза в ответ на МНМ. Полученные результаты обнаруживают связь между гено- и цитотоксическим ответом лимфоцитов на действие МНМ и раком яичников и тела матки. Поскольку генотоксический эффект наблюдается только в делящихся лимфоцитах и через сутки после воздействия этого агента, мы полагаем, что он связан с пострепликативной MMR, субстратом которой является Об-метилгуанин в составе ДНК. Дефицит MMR в лимфоцитах больных определяет их устойчивость к действию МНМ. Генотоксический ответ лимфоцитов на воздействие МНМ может служить маркером MMR. Дефицит MMR был нами обнаружен в лимфоцитах больных раком яичников.

Я. Ф. Шамсутдинова, И. Г. Гатауллин, С. В. Петров  
**КОСТНОЕ МЕТАСТАЗИРОВАНИЕ  
 У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

Казанская государственная медицинская академия

**Введение.** В структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями в мире рак молочной железы занимает 3-е место и составляет 10 % всей заболеваемости. Эта опухоль дает 70 % всех костных метастазов при онкологических заболеваниях.

**Цель исследования.** Улучшение методов ранней диагностики костных метастазов у больных раком молочной железы (РМЖ).

**Задачи исследования.** 1. Изучение частоты и локализации костных метастазов у больных РМЖ. 2. Изучение уровня кальция в сыворотке крови.

**Материалы и методы.** Проведен ретроспективный анализ историй болезни и амбулаторных карт 430 больных РМЖ с метастазами в кости (с 1997 по 2003 гг.). Выявлены следующие гистологические типы опухолей: инфильтрирующие раки – 78 %; 52 % – протоковый инфильтрирующий рак; 18 % – протоковый инвазивный рак с преобладанием внутрипротокового компонента; 8 % – дольковый инфильтративный рак; аденокарцинома – 10 %; неинфильтрирующий внутрипротоковый рак составил 9 %; слизистый рак – 3 %. Рентгенографическое обследование костной системы было проведено 98,0 % больных; ОСГ – 70,5 %; КТ – 24,5 %.

**Результаты.** Выявлены характерные для РМЖ локализации костных метастазов: поясничный отдел позвоночника – в 60,8 % случаев, у 44,3 % больных – в L5, у 43,0 % – в L2, у 41,7 % – в L1, у 40,5 % – в L3, у 31,6 % – в L4; у 44,6 % отмечено поражение грудного отдела позвоночника; у 34,6 % больных – метастазирование в ребра. Чаше встречалось сочетанное поражение различных отделов костной системы. Кроме того, был исследован уровень кальция в сыворотке крови. У 43,3 % больных уровень кальция оставался в пределах нормы, у 51,6 % наблюдалась гиперкальциемия, среди которых 93,5 % больных имели множественные костные метастазы, у 6,45 % отмечалось наличие единичных метастазов. У 43,3 % больных показатель уровня кальция в сыворотке находился в пределах нормы: из этой группы у 80,7 % больных имелись единичные метастазы, у 9,2 % больных – множественные метастазы. У 5,0 % больных отмечалась гипокальциемия при наличии единичных метастазов.

**Выводы.** 1. Наиболее часто костные метастазы РМЖ локализуются в поясничном отделе позвоночника. 2. При наличии множественных костных метастазов у больных РМЖ наиболее вероятно развитие гиперкальциемии.

И. Ж. Шубина, И. С. Стилиди, А. В. Пирогов,  
 Н. В. Малахова, Ф. В. Доненко, М. В. Киселевский  
**ИНТРАОПЕРАЦИОННАЯ ДИАГНОСТИКА  
 МИКРОМЕТАСТАЗОВ В КОСТНОМ МОЗГЕ И  
 ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛАХ  
 ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ  
 С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА  
 ИММУНОМАГНИТНОЙ СЕПАРАЦИИ**

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

**Цель исследования.** Оценка возможности применения иммуномагнитной сепарации для интраоперационной диагностики микрометастазов в лимфатических узлах и костном мозге у больных немелкоклеточным раком легких и раком пищевода.

**Материалы и методы.** Пробы для исследования были взяты у 25 пациентов в возрасте от 40 до 65 лет. Больным проводили лечебное хирургическое вмешательство по поводу немелкоклеточного рака легких и рака пищевода II-III стадий. Резерцированный на этапе торакотомии сегмент ребра и удаленные в процессе операции регионарные лимфатические узлы использовали для анализа на микрометастазы. Удаленный сегмент ребра и лимфатический узел забирали непосредственно из операционной в лабораторию. Выделение цитокератин-положительных (ЦК+) клеток из МНК костного мозга и лимфатических узлов проводили посредством положительной селекции клеток с использованием набора для магнитной сепарации опухолевых клеток.

**Результаты.** В результате магнитной сепарации образцов костного мозга, взятых у 25 онкологических больных, в 15 случаев были обнаружены от 2 до 15 ЦК+ клеток, окруженных магнитными шариками в виде розеток. В позитивных образцах при окрашивании гематоксилином-эозином выявлялись крупные клетки с ядрами округлой или овальной формы, которые, как правило, при цитологическом анализе не могли быть квалифицированы как опухолевые. Лишь в 2 случаях ЦК+ клетки имели признаки атипии. У 4 пациентов в морфологически интактных лимфатических узлах обнаружены единичные ЦК-позитивные клетки, которые при окрашивании гематоксилином-эозином также были расценены как опухолевые.

**Выводы.** Метод магнитной сепарации позволяет получить обогащенную фракцию цитокератин-положительных клеток и может быть использован для целей интраоперационной диагностики микрометастазов. Для более точной верификации микрометастазов в костном мозге и лимфатических узлах онкологических больных необходимо дополнительное стандартное окрашивание клеток с последующим цитологическим исследованием.

# НАНОТЕХНОЛОГИИ

Д. А. Безруков<sup>1</sup>, А. И. Королева<sup>1</sup>, А. П. Каплун<sup>1</sup>, О. Л. Орлова<sup>2</sup>

## ОЦЕНКА ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ДОКСОРУБИЦИНА ИЗ ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ СТЕРИЧЕСКИ СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ ЛИПОСОМ

<sup>1</sup>Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова

<sup>2</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

**Введение.** Одним из перспективных методов доставки лекарственных препаратов являются липосомы. Для повышения эффективности высвобождения действующего вещества из носителя разрабатываются термочувствительные липосомы, высвобождающие лекарственное вещество в нагреваемых тканях.

**Цель исследования.** Оценка динамики высвобождения доксорубина из стерически стабилизированных термочувствительных липосом при температуре фазового перехода липидной композиции и ниже.

**Материалы и методы.** Для получения липосом использовали дипальмитоилфосфатидилхолин (DPPC), дистеароилфосфатидилхолин (DSPC), пегелированный дистеароилфосфатидилэтаноламин (PEG-2000-DSPE) фирмы Lipoid; яичный фосфатидилхолин (ePC) (Биолек); холестерин (Chol) (Sigma); сульфат аммония (Химмед, х.ч.). Все вещества соответствовали нормативной документации и использовались без дополнительной очистки.

Включение доксорубина в термочувствительные (DPPC: DSPC: DSPE-PEG-2000: Chol 9:1:0,02:0,2 (мольн.)) и обычные липосомы (ePC: DSPE-PEG-2000: Chol 10:0,02:0,2 (мольн.)) проводили против градиента сульфата аммония. Моноламельлярные липосомы получали экструзией через поликарбонатные мембраны (Watman) с размером пор 200 нм. Интенсивность флуоресценции доксорубина измеряли на спектрофлуориметре Cary Eclipse (Varian, США). Липосомы получали с концентрацией доксорубина внутри выше концентрации самотушения флуоресценции для того, чтобы фиксировать высвобождение субстанции по возрастанию флуоресценции. Дисперсию липосом термостатировали при температуре 37 °С или 43 °С и измеряли изменение флуоресценции (Ex/Em 475/590) во времени.

**Результаты.** Для термочувствительных липосом увеличение флуоресценции через 10 мин при 43 °С в 4 раза превышало изменение флуоресценции при 37 °С. Флуориметрическое количественное определение высвободившегося доксорубина затруднено рассеянием света в липосомальной дисперсии, а также тем, что доксорубин, по-видимому, частично ассоциирован с поверхностью бислоя липосом. Определение остаточного количества доксорубина с помощью колоночной гель-хроматографии показывает, что при нагревании до 43 °С данные термочувствительные липосомы через 10 мин высвобождают около 30 % загруженной субстанции. Для нетермочувствительных липосом скорость и степень высвобождения доксорубина при 37 °С и 43 °С существенным образом не отличалась.

*Разработка поддержана грантом Федерального государственного унитарного предприятия «Государственный научный центр «НИОПИК» (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК»).*

Д. А. Безруков<sup>1</sup>, А. И. Королева<sup>1</sup>, А. П. Каплун<sup>1</sup>

О. Л. Орлова<sup>2</sup>, Е. В. Игнатова<sup>2</sup>,

А. В. Ланцова<sup>2</sup>, Н. А. Оборотова<sup>2</sup>

## МОДИФИКАЦИЯ МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ СТЕРИЧЕСКИ СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ЛИПОСОМ С АКТИВНОЙ ЗАГРУЗКОЙ ДОКСОРУБИЦИНОМ

<sup>1</sup>Московская государственная академия

тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова

<sup>2</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

**Введение.** В ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН на протяжении многих лет ведутся поиски новых средств доставки противоопухолевых препаратов. В качестве новой лекарственной формы доксорубина (DOX) нами предложены длительноциркулирующие термочувствительные липосомы с активной загрузкой DOX pH-градиентным методом. С целью повышения загрузки препарата в липосомы разработана модификация метода получения термочувствительных стерически стабилизированных липосом с активной загрузкой против градиента сульфата аммония.

**Материалы и методы.** Дипальмитоилфосфатидилхолин (DPPC), дистеароилфосфатидилхолин (DSPC), пегелированный дистеароилфосфатидилэтаноламин (PEG-2000-DSPE) фирмы Lipoid; холестерин (Chol) (Sigma); сульфат аммония (Химмед, х.ч.). Все вещества соответствовали нормативной документации и использовались без дополнительной очистки.

**Результаты.** В ходе исследования подбирались оптимальные условия для получения стерически стабилизированных липосом (DPPC: DSPC: DSPE-PEG-2000: Chol 9:1:0,02:0,2), активно загруженных доксорубином против градиента сульфата аммония. Показано, что при формировании первоначальной дисперсии мультиламельлярных везикул путем удаления смешивающегося с раствором сульфата аммония спирта, в котором вносятся необходимые липиды, остаточные количества спирта неконтролируемым образом снижают степень загрузки субстанции и стабильность липосомальной дисперсии в целом. Поэтому липидную пленку получали упариванием на роторном испарителе раствора липидов в хлороформе и высушивали под вакуумом для максимального удаления органического растворителя. Далее при 50 °С пленку гидратировали 250 мМ раствором сульфата аммония и экструдировали при нагревании через поликарбонатные мембраны (Watman) с размером пор 200 нм. Необходимый для загрузки градиент концентрации сульфата аммония формировался 20-кратным разбавлением дисперсии моноламельлярных липосом 10 мМ буфером HEPES (с использованием в качестве криопротектора 5%-ного раствора лактозы). Загрузку проводили при 50 °С и перемешивании в течение 1 ч. Наилучшие значения степени загрузки DOX получены для pH 8,4. Использование для создания градиента существенно более трудоемких методов, основанных на удалении не включившейся в липосомы соли, таких, как гель-фильтрация и диализ, не дает для липосом данного состава преимущества по сравнению с предложенным.

Полученные по разработанной методике липосомы стабильны в течение нескольких суток, имеют степень включения доксорубина в липосомы до 85 % и размер 230–250 нм.

*Работа поддержана грантом Федерального государственного унитарного предприятия «Государственный научный центр «НИОПИК» (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК»).*

Е. Л. Водовозова, Н. Р. Кузнецова,

Г. П. Гаенко, Ю. Г. Молотковский

## ЛИПОСОМЫ С ЛИПИДНЫМ КОНЬЮГАТОМ МЕТОТРЕКСАТА: СТАБИЛЬНОСТЬ ПРИ ХРАНЕНИИ И АКТИВНОСТЬ В КУЛЬТУРЕ МЕТОТРЕКСАТ-РЕЗИСТЕНТНЫХ КЛЕТОК ЛЕЙКЕМИИ ЧЕЛОВЕКА

Институт биоорганической химии им. акад. М. М. Шемякина и

Ю. А. Овчинникова РАН, Москва

**Введение.** Эффективность применения метотрексата (MTX) ограничивается развитием клеточной устойчивости, связанной с нарушением импорта MTX в клетку из-за понижения активности белка-транспортёра восстановленного фолата (RFC). Включение лекарств в липосомы в виде липидных биодеградируемых производных позволяет уменьшить системную токсичность и преодолеть резистентность клеток, обусловленную трансмембранным переносом.

**Задачи исследования.** Изучить способность синтезированного нами диглицеридного конъюгата МТХ (МТХ-DG) встраиваться в мембрану липосом, предназначенных для системного введения, и возможность получения липосомальных препаратов длительного хранения. Сравнить цитотоксичность указанных липосом в культурах клеток лейкемии человека, обладающих различной чувствительностью к МТХ.

**Материалы и методы.** Липосомы получали экструзией суспензий смесей яичный фосфатидилхолин – фосфатидилинозит («антиопсонизирующий» липид) – МТХ-DG, 8:1:1 (мольн.), в буферном растворе через поликарбонатные мембраны с диаметром пор 100 нм. Размеры и степень агрегации липосом определяли с помощью динамического лазерного светорассеяния и электронной микроскопии, состав – с помощью гель-хроматографии, анализируя смешанные с этанолом фракции на фосфолипиды колориметрическим методом, на МТХ-DG – УФ-спектрофотометрически ( $\epsilon_{300} = 25000$ ). Дисперсии замораживали ( $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), хранили неделями ( $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), размораживали и обрабатывали 5 мин на ультразвуковой (УЗ) бане. Цитотоксическую активность в культурах клеток Т-лимфобластной лейкемии линии СЕМ-CCRF и МТХ-устойчивой сублинии СЕМ/МТХ определяли стандартно для антифолатов по включению трипанового синего.

**Результаты.** 1. МТХ-DG полностью включался в липосомы диаметром  $126\pm 30$  нм. 2. После размораживания липосомы регенерировали размеры; агрегации не наблюдалось даже без УЗ-обработки; МТХ-DG из мембраны липосом не выделялись. 3. Для МТХ  $IC_{50}$   $16,4\pm 4,9$  и  $0,075\pm 0,005$  мкМ в культурах СЕМ/МТХ и СЕМ-CCRF соответственно; для липосом с МТХ-DG –  $3,8\pm 1,9$  и  $0,77\pm 0,06$  мкМ, т.е. резистентность уменьшилась в 43 раза (данные 2 независимых экспериментов в 2 повторах).

**Выводы.** 1. Дисперсии липосом, содержащие релевантные для *in vivo* введения концентрации МТХ-DG, можно длительно хранить. 2. Переход от МТХ к липосомальной форме МТХ-DG позволяет преодолеть устойчивость клеток, связанную с дефицитом RFC.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 06-04-49432).*

*С. И. Воробьев*

## НАНОСИТЕЛИ НА ОСНОВЕ ПЕРФТОРУГЛЕРОДНЫХ ЭМУЛЬСИЙ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ ЦЕЛЕЙ

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

Наносители на основе перфторуглеродных эмульсий медико-биологического назначения – это прямые, концентрированные, высоко- и свободно-дисперсные, гетерогенные термодинамически неустойчивые коллоидные системы, обладающие избыточной свободной энергией и огромной сорбционной поверхностью (поверхность раздела фаз), в которых дисперсная фаза – нерастворимых монодисперсных наночастиц перфторуглеродов покрыта поверхностно-активным эмульгатором и находится в дисперсной водной структурированной среде во взвешенном состоянии. Сорбционная поверхность 1 л 20%-ной эмульсии перфторуглеродов составляет 12 тыс. м<sup>2</sup>. Перфторэмульсии являются универсальными наносителями, способными проникать в любые участки организма и отдельного органа и активно влиять на них, транспортировать на своей поверхности не только любой газ и органические соединения, но и механические частицы, маркеры, активные фармакологические элементы, действующие активные вещества и т.д. Высокодисперсные наносистемы на основе перфторуглеродных эмульсий занимают промежуточное положение между макроскопическими гетерогенными системами и молекулярными растворами – гомогенными системами. Высокодисперсные системы термодинамически неравновесны и требуют для своего существования специальной стабилизации – эмульгации с помощью специальных гомогенизаторов и эмульгаторов. Термодинамическая неустойчивость лиофобных систем связана с большим запасом свободной поверхностной энергии на огромной межфазной поверхности. Наличие большой поверхностной энергии обусловлено коллоидным состоянием, а именно, высокой дисперсностью субмикронных эмульсий, полученных диспергационным способом. Диспергирование или разрыв перфторуглеродов на субмикронные частицы (наночастицы) можно рассматривать как процесс образования новых сорбционных

поверхностей, способных выполнять транспортную роль различных веществ и газов. Перфторуглеродные наносители – относительно монодисперсные эмульсии (более 85 % частиц находятся в пределах до 100 нм), с узким распределением дисперсии, максимальным диаметром частиц не более 250 нм (0,1 %) и средним диаметром частиц не более 50–80 нм.

*Л. Г. Гатинская, Е. В. Игнатьева, Н. А. Дмитричева, Б. С. Кикоть, И. В. Ярцева*

## КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИОСЕНСА В ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ

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

В лаборатории разработки лекарственных форм ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН с целью улучшения фотосенсибилизирующих свойств тиосенса получено несколько моделей его лиофилизированной липосомальной лекарственной формы (ЛЛФ).

Задачей настоящего исследования явилась разработка методики количественного определения тиосенса в полученных моделях ЛЛФ. Для этого был использован метод спектрофотометрии в видимой области. При работе с субстанцией тиосенса было показано, что положение максимума в спектре не фиксировано и сильно зависит от условий съемки. Наиболее воспроизводимые результаты были получены при работе с хлороформно-спиртовыми растворами. Содержание тиосенса в ЛЛФ определяли в самом интенсивном максимуме поглощения при  $717\pm 4$  нм. Было установлено, что интенсивность поглощения хлороформно-спиртовых растворов ЛЛФ препарата в интервале от 712 до 724 нм подчиняется закону Бугера-Ламберта-Бера в необходимом диапазоне концентраций от 1,33 мкг/мл до 3,33 мкг/мл в пересчете на тиосенс. Исследование влияния вспомогательных веществ, входящих в состав ЛЛФ, показало, что они не имеют собственного поглощения, но влияют на положение аналитического максимума в спектре основного вещества. Обычно наблюдается его bathochromic сдвиг (до 8 нм) относительно спектра субстанции. Для разработки методики количественного определения тиосенса в ЛЛФ для разных составов ЛЛФ экспериментально были подобраны условия приготовления хлороформно-спиртовых растворов рабочего стандартного образца (РСО) и испытуемого раствора ЛЛФ. При этом раствор РСО в хлороформе для более полного растворения вещества выдерживался перед разбавлением спиртом в течение 30 мин, в то время, как раствор ЛЛФ – не более 5 мин, поскольку при более длительном его выдерживании появлялась опалесценция. В некоторых случаях, особенно когда ЛЛФ содержала повышенные количества лактозы, добавление спирта этилового к хлороформному раствору ЛЛФ тиосенса сопровождалось выпадением осадка, который однако легко удаляется фильтрованием и не влияет на результаты анализа. Разработанная методика обладает достаточной точностью и воспроизводимостью. Относительная ошибка определения не превышает 2,0 %.

*Работа поддержана Правительством г. Москвы. Авторы благодарят Г. Н. Ворожцова, Е. А. Лукьянца и В. М. Деркачеву за сотрудничество и предоставленные для исследования образцы тиосенса.*

## ЛАЗЕРНАЯ КОРРЕЛЯЦИОННАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ. ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСОВ КРОВИ В ДИАПАЗОНЕ РАЗМЕРОВ 10–1000 НМ

*ГКНПЦ им. Хруничева, Москва*

Лазерная корреляционная спектроскопия (ЛКС) позволяет перекрывать диапазон измеряемых размеров наночастиц в растворах от 1 до 10000 нанометров при динамическом диапазоне, по концентрации достигающем нескольких порядков. Для измерения достаточен вес пробы в несколько десятых миллиграмма, время отдельного измерения составляет несколько мин.

ЛКС позволяет оценивать состояние процессов, происходящих в биологической жидкости, в реальном масштабе времени и в реальных (нативных) условиях. В этом принципиальное отличие его от других методов, используемых в лабораторной практике, где применяется препарирование.

На основе ЛКС нами создан прибор, специально предназначенный для исследования биологических жидкостей. Он позволяет анализировать нативные жидкости человека (мочу, слюну, кровь), определяя в них сверхмалые количества ( $10^{-5}$  частиц) крупномолекулярных фрагментов из частиц размерами 1–3000 нм, присущими либо онкопатологии, либо патологии, связанной с сердечно-сосудистой системой. Результат анализа – компьютерная обработка, позволяющая развить метод на определение групп риска различных заболеваний.

Для верификации получаемых с помощью ЛКС результатов и выяснения природы объектов в сыворотке крови, дающих основной вклад в спектры рассеянного лазерного излучения, нами разработаны методики подготовки образцов для анализа на атомно-силовом микроскопе. Исследования образцов на атомно-силовом микроскопе показали, что в сыворотке крови пациентов в норме основной вклад в рассеяние лазерного излучения дают молекулярные частицы, группирующиеся в области размеров 30–50 и 100–200 нм. 1-я группа частиц имеет форму, близкую к сферической, и предположительно представлена липопротеинами низкой плотности. Ко 2-й группе частиц относятся молекулярные образования неправильной формы, предположительно являющиеся комплексами 2 липопротеинов низкой плотности с другими компонентами сыворотки крови.

В сыворотке крови больных появляется большое количество молекулярных образований в диапазоне размеров от 100 до 1000 нм, имеющих сложную форму и отличающихся большим разнообразием.

*А. В. Иванов<sup>1</sup>, В. М. Мушта<sup>2</sup>,  
В. Г. Певгов<sup>2</sup>, М. В. Уткина<sup>1</sup>, А. Ю. Барышников<sup>1</sup>*  
**МЕТОДЫ НАНОТЕХНОЛОГИИ  
В ИССЛЕДОВАНИИ  
БИОЛОГИЧЕСКИХ СТРУКТУР**

<sup>1</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

<sup>2</sup>Московский физико-технический институт

В современной медицине и биологии все большее количество вопросов решаются на субклеточном уровне, имеющем дело с объектами нанометрового диапазона. К ним относятся все разновидности белков, липидов, ДНК и различных крупномолекулярных комплексов. Многие успехи современной фармакологии, геной инженерии, биотехнологий связаны с проведением технологических операций, приводящих к изменениям нанометровых объектов. В настоящее время возрастающая потребность в измерении и контроле концентрации частиц нанометрового диапазона размеров привела к интенсивным исследованиям для создания соответствующих средств. Для этих целей применяются методы рентгеновского и нейтронного рассеяния, электронная микроскопия, атомно-силовая и туннельная микроскопия. Однако названные методы применимы, как правило, для наночастиц, помещенных на поверхности твердого тела. Для измерения параметров наночастиц в жидкости ситуация существенно хуже. В биологии для этих целей применяют центрифугирование, седиментацию, хроматографию, исследования осмотического давления и пр. Эти методы трудоемки и длительны, к тому же малоэффективны в случае гетерогенных сред, состоящих из частиц с широким распределением размеров.

Для реального внедрения многих разработанных современной фармакологией эффективных лекарственных препаратов необходимо капсулирование их в липосомные и мицеллярные объекты, имеющие размеры не более 100 нм. Отсутствие технических средств контроля размеров этих объектов в нативных жидкостях тормозит внедрение в широкую практику лекарственных препаратов нового поколения не только у нас, но и за рубежом. На этом фоне привлекательно выглядят методы лазерной корреляционной спектроскопии, где достигнут диапазон измеряемых размеров от 1 до 10 000 нанометров при динамическом диапазоне по концентрациям, достигающем 5–8 порядков. Достижения в лазерной технике и электронике позволяют сделать названные устройства достаточно компактными и высоко автоматизированными. Нами разработаны приборы и методы измерения размеров наночастиц в растворах, в том числе в биологических жидкостях, таких, как плазма крови, лимфа и др. Для измерения достаточен объем пробы в несколько десятых миллилитра, а время отдельного измерения составляет несколько мин.

Выявление тяжелых заболеваний на ранней стадии – одна из актуальных задач медицины. Развитие патологических процессов в орга-

низме сопровождается изменениями ряда молекулярных параметров биологических жидкостей. Исследования оптических свойств биополимеров, включая белки плазмы крови, показали эффективность использования метода динамического рассеяния лазерного излучения для контроля этих параметров. С помощью метода может быть получено распределение молекул сыворотки по размерам и концентрации, но, самое главное, он позволяет оценивать состояние процессов, происходящих в биологическом объекте, в реальном масштабе времени. В серии проведенных клинических испытаний основные диагностические характеристики (чувствительность, специфичность, эффективность) метода лазерной корреляционной спектроскопии (ЛКС) ложатся в интервал 80–90 %. ЛКС является достаточно эффективным, не зависящим от локализации опухоли методом скрининговой диагностики онкологических заболеваний и динамического наблюдения онкологических больных.

В настоящее время в отечественной медицине сложилась ситуация для экономически эффективного массового внедрения методов нанотехнологий. Реализация этого направления требует междисциплинарного подхода и консолидированного научно-технического потенциала, который в России пока еще есть.

*Е. В. Игнатьева, О. Л. Орлова, И. В. Ярцева,  
Л. Г. Гатинская, М. А. Кортова,*

*Е. В. Тазина, Н. А. Оборотова*

**ОЦЕНКА ВКЛЮЧЕНИЯ  
ДОКСОРУБИЦИНА  
В ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ  
СТЕРИЧЕСКИ СТАБИЛИЗИРОВАННЫЕ  
ЛИПОСОМЫ**

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

**Введение.** В ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН разрабатывается липосомальная лекарственная форма доксорубицина. В настоящее время для увеличения загрузки препарата в липосомы и повышения технологичности процесса осуществлена модификация метода с активной загрузкой доксорубицина против градиента сульфата аммония.

**Цель исследования.** Разработка методики оценки эффективности включения доксорубицина в липосомы, отличающейся достаточной точностью и быстротой исполнения.

**Материалы и методы.** Дипальмитоилфосфатидилхолин (DPPC); дистеароилфосфатидилхолин (DSPC), пегелированный дистеароилфосфатидилэтанолламин (PEG-2000-DSPE) (Lipoid), холестерин (Chol) (Sigma), сульфат аммония (Химмед, х.ч.). Включение доксорубицина в термочувствительные липосомы проводили против градиента сульфата аммония в весовом соотношении препарат : липиды (0,2:1). Не включенный в липосомы доксорубицин отделяли методом гель-фильтрации, пропуская дисперсию липосом через колонку с Сефадексом G-50. На выходе из колонки получали I фракцию – липосомы, нагруженные доксорубицином. Доксорубицин, не включенный в липосомы, оставался на колонке. Эффективность включения доксорубицина в липосомы оценивали методом прямой спектрофотометрии при длине волны  $\lambda=498\pm 2$  нм. Измеряли оптическую плотность спиртовых растворов исходных липосом и I фракции. Содержание доксорубицина в липосомах рассчитывали, учитывая величину разбавления рабочих растворов.

**Результаты.** Исследование влияния на спектральные характеристики доксорубицина вспомогательных веществ (DPPC, DSPC, PEG-2000-DSPE и Chol), входящих в состав ЛЛФ, показало, что они не влияют на положение максимумов в спектре основного вещества, однако имеют собственное поглощение (около 0,1 при  $\lambda=252$  нм и около 0,02 при  $\lambda=498$  нм). Вследствие этого эффективность включения доксорубицина в липосомы определяли при  $\lambda=498\pm 2$  нм, где поглощение вспомогательных веществ минимально относительно спирта этилового. Установлено, что включение доксорубицина в липосомы составляло 75–85 %.

**Выводы.** Разработанная методика проста в исполнении и позволяет оценить эффективность включения доксорубицина в липосомы с точностью 2 %.

*Работа поддержана грантом Федерального государственного унитарного предприятия «Государственный научный центр «НИОПИК» (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК»).*

*Н. В. Классен, В. В. Кедров, И. М. Шмытько, О. А. Кривко, Е. А. Кудренко, Г. К. Струкова, С. З. Шмурак*

### **НАНОДЕТЕКТОРЫ ДЛЯ НАНОСКОПИЧЕСКОГО РАЗРЕШЕНИЯ РЕНТГЕНОВСКИХ ИЗОБРАЖЕНИЙ**

*Институт физики твердого тела РАН, Черноголовка*

Для непосредственного рентгеноскопического наблюдения биопроцессов, происходящих в живых организмах на клеточном уровне, весьма желательное улучшение пространственного разрешения до субмикронных или даже наноскопических масштабов. Это могло бы, например, дать существенно новую информацию о механизмах действия лекарственных препаратов, фотодинамических и других методов на опухолевые клетки. Однако несмотря на то, что длина волны излучения, применяемого для просвечивающей рентгенодиагностики, не превышает и десятипроцентной доли микрона (что определяет теоретический предел соответствующего пространственного разрешения), достигаемая на практике четкость рентгеновских изображений на 5–6 порядков хуже. Одним из наиболее существенных факторов, лимитирующих пространственное разрешение рентгеноскопии, являются характеристики существующих детекторов рентгеновского излучения. Во-первых, при поглощении рентгеновского кванта в материале детектора за счет переизлучения вторичных рентгеновских фотонов значительно расширяется возбужденная область, сигнализирующая тем или иным способом (например, сцинтилляционной вспышкой) о месте и времени попадания рентгеновского кванта. Во-вторых, применяемые обычно для регистрации рентгеновского излучения экраны из сцинтилляционной керамики характеризуются высоким светорассеянием, за счет чего точность позиционирования места попадания рентгеновского кванта еще более ухудшается.

Применение нанокристаллов для детектирования рентгеновского излучения позволяет все же довести пространственное разрешение просвечивающей рентгенодиагностики до субмикронного или наноскопического уровня. Это основано на способностях обширного набора кристаллических материалов при определенных внешних воздействиях (например, изменении давления или температуры) переходить из одного структурного состояния в другое. При фазовых переходах изменяются многие характеристики материала: спектральные зависимости отражения и пропускания света, электросопротивление, химическая активность и т.д. Простые оценки показывают, что поглощение рентгеновского фотона с энергией в несколько десятков КэВ наночастицей диаметром порядка 50 нм способно повысить ее температуру на сотни градусов, что вполне может вызвать в ней структурное превращение, которое возможно зарегистрировать по локальным изменениям оптических или электрических параметров. В этой ситуации размеры наночастиц и энергии используемых рентгеновских квантов должны быть подобраны так, что если первичный квант вызывает структурное превращение, вторичные переизлученные рентгеновские фотоны (обладающие, естественно, значительно меньшей энергией), поглощаясь аналогичными наночастицами, вызывать структурные превращения уже не будут. За счет этого точность локализации места поглощения будет определяться размерами поглотившей квант наночастицы.

Безусловно, считывание пространственного распределения вызванных рентгеновским излучением структурных превращений с субмикронной или наноскопической точностью – самостоятельная технически сложная задача. Но при учете современного состояния сканирующей микроскопии (например, атомно – силовой и оптической микроскопии ближнего поля) она вполне выполнима. Более того, такое считывание может осуществляться не только *a posteriori* (подобно проявлению фотопленки), но и *in situ*, т.е. непосредственно в процессе наблюдения.

*Н. В. Классен, В. В. Кедров, Н. П. Кобелев, О. А. Кривко, Е. А. Кудренко, И. М. Шмытько, С. З. Шмурак, Г. К. Струкова*

### **НАНОКРИСТАЛЛИЧЕСКИЕ СЦИНТИЛЛЯТОРЫ ДЛЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ**

*Институт физики твердого тела РАН, Черноголовка*

Наши исследования в области нанотехнологий, физических и химических свойств нанокристаллических сцинтилляторов из оксидов и галогенидов тяжелых металлов показали, что они представляют инте-

рес для противоопухолевых воздействий, сочетающих в себе преимущества фотодинамической и химической терапии. Размеры сцинтилляционных наночастиц могут регулироваться в пределах от 20 нм до 100 нм, что дает возможность доставлять их теми или иными методами в опухолевые клетки, расположенные в различных участках организма, как это делается при химической терапии (а в результате дополнительных исследований избирательность доставки наночастиц именно в опухолевые клетки может быть сделана достаточно высокой). Более того, в отличие от химиотерапии наносцинтилляционные частицы проявляют терапевтическое воздействие не всегда, а только будучи активированными рентгеновским излучением, которое можно направлять именно на пораженные опухолью участки, что еще более повысит противоопухолевую избирательность воздействия наносцинтилляторов. За счет того, что плотности веществ, составляющих сцинтилляторы, намного превышают плотность живых организмов, рентгеновское излучение будет в основном поглощаться именно сцинтилляторами, свободно проходя через живые ткани. Наносцинтиллятор, поглотив рентгеновский квант, излучает интенсивную вспышку света. Спектральный диапазон вспышки может подбираться с помощью специальных активаторов свечения сообразно поставленной цели. В одном случае это может быть жесткое ультрафиолетовое излучение, само по себе разрушающее клетки в радиусе нескольких микрон. В другом случае сцинтилляторы могут испускать видимый свет, возбуждающий молекулы фотосенсибилизаторов, которые, в свою очередь, как при фотодинамической терапии, будут образовывать активный кислород, разрушающий опухолевые клетки. Есть и еще одна весьма интересная возможность подбора такого спектрального диапазона и интенсивности сцинтилляционной вспышки, которые будут не разрушать клетки, а лишь модифицировать их функции в заданном направлении.

Серьезное преимущество наносцинтилляторов по сравнению с традиционной фотодинамической терапией в том, что фотодинамическое воздействие может оказываться лишь на клетки, расположенные на глубине не более, чем в несколько миллиметров от открытой поверхности, которые можно достичь лазерным излучением. Использование же наносцинтилляторов, свечение которых возбуждается рентгеновскими квантами, снимает ограничения по глубине залегания опухоли, сохраняя в силе все преимущества фотодинамической терапии.

Безусловно, практическое применение описанной выше наносцинтилляционной методики для противоопухолевой терапии требует решения целого ряда технических вопросов: отбора наносцинтилляторов, наименее токсичных для живого организма, с одной стороны, но при этом эффективно переводящих просвечивающие организм рентгеновские кванты в оптические фотоны, преобразующие опухолевые клетки необходимым образом; разработки методик селективной доставки наносцинтилляторов в намеченные для терапии участки (с помощью липосом, мицелл или иных приемов), подбора оптимальных параметров рентгеновского облучения (спектральной частоты квантов, интенсивности и интегральной энергии облучения) и т.д. Для решения указанных вопросов требуется тесная кооперация разработчиков наносцинтилляторов со специалистами медико-биологического профиля.

*М. А. Кортава, А. П. Полозкова, М. К. Кандаурова, Н. А. Томашевская, О. Г. Рогова, О. Л. Орлова, Е. В. Игнатьева, Н. А. Оборотова*

### **ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КРИОПРОТЕКТОРА (САХАРОЗЫ) НА РАЗМЕР ВЕЗИКУЛ СТЕРИЧЕСКИ СТАБИЛИЗИРОВАННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ ФОТОСЕНСА**

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

**Введение.** Применение сублимационной сушки в производстве липосомальных лекарственных средств является одним из способов получения препарата высокого качества. При замораживании, лиофилизации и последующем ресуспендировании липосом в воде происходит их реорганизация и высвобождение значительной части внутреннего содержимого – раствора лекарственного препарата – во внешний раствор. Для защиты целостности везикул при лиофилизации и хранении сухого препарата в состав липосомальной дис-

персии ввели ряд криопротекторов: декстран, глюкозу, лактозу, маннит и сахарозу. Наиболее приемлемым криопротектором оказался сахароза.

**Цель исследования.** Определение влияния способа добавления сахарозы на размер везикул после лиофилизации липосомальной дисперсии фотосенса (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК»).

**Материалы и методы.** Липосомы получали путем гидратирования тонкой липидной пленки, образованной упариванием в вакууме на роторном испарителе хлороформного раствора липидов (Lipoid, Германия). В качестве водной фазы использовали следующие растворы: I – 1% раствор фотосенса; II – 1% раствор фотосенса, содержащий 2% сахарозы; III состав – 1% раствор фотосенса 1, к которому, после образования липосом, добавляли раствор сахарозы (2% от общего объема липосомальной дисперсии). Размер липосом измеряли на приборе Submicron Particle Sizer NICOMP-380.

**Результаты.** Средний диаметр многослойных липосом фотосенса всех составов составил около 500 нм. При измельчении многослойных липосом ультразвуком оказалось, что диаметр липосом в дисперсии I состава без криопротектора уменьшился до 200 нм, а липосомы составов II и III, содержащие сахарозу, укрупнились. Поэтому криопротектор следует добавлять после измельчения дисперсии ультразвуком. Получение однослойных липосом проводили также и методом экструзии, последовательно пропуская дисперсию через фильтры Nucleopore с размерами пор 0,4 и 0,2 мкм. Размер однослойных липосом после экструзии составил около 200 нм. Затем, измельченные липосомальные дисперсии фотосенса с криопротектором по 2 мл разливали во флаконы, замораживали и лиофилизовали на полке сублимационной сушки «Минифаст». Лиофилизированную стерически стабилизированную лекарственную липосомальную форму фотосенса диспергировали 2 мл деионизированной воды.

**Выводы.** По среднему диаметру везикул, который остался на уровне 200 нм, и по эффективности включения фотосенса внутрь липосом выбрали состав III.

*Работа поддержана грантом Федерального государственного унитарного предприятия «Государственный научный центр «НИОПИК» (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК»).*

*А. И. Котельников<sup>1</sup>, Р. А. Котельникова<sup>1</sup>, Н. П. Коновалова<sup>1</sup>, Г. Н. Богданов<sup>1</sup>, И. И. Сходкина<sup>1</sup>, В. С. Романова<sup>2</sup>, С. М. Андреев<sup>3</sup>*

### **ГИБРИДНЫЕ НАНОСТРУКТУРЫ НА ОСНОВЕ ФУЛЛЕРЕНОВ. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И ПРИМЕНЕНИЕ В ОНКОЛОГИИ**

<sup>1</sup>Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка

<sup>2</sup>Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова РАН, Москва

<sup>3</sup>ГНЦ Институт иммунологии ФМБА РФ, Москва

**Введение.** Значительное место среди современных наноматериалов занимают структуры на основе фуллеренов и эндометаллофуллеренов.

**Задачи исследования.** Создание на базе фуллеренов и эндометаллофуллеренов новых гибридных биологически активных наноструктур (ГБАНС) для их применения в медицине, в том числе в онкологии, и в качестве контрастирующих материалов для ЯМР-томографии.

**Результаты.** Предложена методика селективного присоединения к фуллереновому ядру 1 или 2 аддендов из класса аминокислот, других метаболитов и биологически активных соединений. Комбинация 2 различных аддендов открывает возможность создания широкого набора гибридных наноструктур: один из аддендов, аминокислота или пептид, придает фуллереновому ядру водорастворимость и мембранотропность, а 2-й – дополнительные биологические свойства, в том числе антиоксидантные, фотосенсибилизирующие, способность донировать оксид азота или ингибировать ключевые ферменты. Развита методика ковалентного присоединения фуллеренов к белкам и ДНК, что важно для исследования иммунологических свойств ГБАНС и их фотодинамического действия.

При малой токсичности такие структуры проявляют мембранотропные и антиоксидантные свойства, влияют на функционирование многих ферментативных систем и проникают через гематоэнцефали-

тический барьер, могут выступать в качестве фотоактивных молекул. Выявлена их противоопухолевая, антивирусная (в том числе против СПИДа) и фотодинамическая активность.

Обнаружено противоопухолевое и аниметастатическое действие при комбинированном применении ГБАНС (аминокислотных производных фуллерена с использованием в качестве вторых аддендов группировок – доноров NO и антиоксидантов) и известных цитостатиков.

Созданы гибридные структуры на основе эндометаллофуллеренов, перспективные для применения в ЯМР-томографии.

**Выводы.** Разработанные методы и подходы позволяют осуществить создание на базе фуллеренов нового класса биологически активных соединений, перспективных для применения в химиотерапии и фотодинамической терапии опухолей и для их диагностики.

*А. В. Ланцова, Н. А. Оборотова, З. С. Шпрах, О. Л. Орлова, А. П. Полозкова, К. В. Костин*

### **РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛИЗОМУСТИНА В ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЕ**

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

**Введение.** Для увеличения избирательности противоопухолевого действия лизомустина в лаборатории разработки лекарственных форм ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН создана стерически стабилизированная липосомальная форма препарата. Однократное внутривенное введение липосомальной дисперсии позволило расширить диапазон терапевтических доз лизомустина с эффектом 100%-ного излечения (L-1210, карцинома легкого Льюиса).

**Цель исследования.** Для стандартизации новой лекарственной формы разработать методику количественного определения лизомустина в липосомах.

**Материалы и методы.** При проведении исследований использованы вещества, соответствовавшие требованиям нормативной документации: ГФ XI изданий, USP 27, отдельных Фармакопейных статей и ГОСТов.

**Результаты.** В электронном спектре поглощения спиртового раствора лизомустина наблюдается интенсивная полоса поглощения с максимумом  $230 \pm 2$  нм. Установлено соблюдение закона Бугера-Ламберта-Бера для спиртового раствора липосомального лизомустина в этой области спектра в интервале концентраций от 0,01 мг/мл до 0,05 мг/мл. Показано, что спектр поглощения спиртового раствора липосомального лизомустина относительно раствора вспомогательных ингредиентов по положению максимумов, форме кривой и величине поглощения идентичен спектру субстанции лизомустина. Предложенная методика предусматривает использование раствора сравнения, содержащего соответствующие вспомогательные вещества в таком же разведении, для исключения погрешностей при количественном определении лизомустина в липосомальной лекарственной форме. Воспроизводимость методики оценивали на модельных смесях липосом с точными навесками лизомустина. Ошибка среднего результата количественного определения лизомустина в модельных смесях составила 0,18–0,57%. Среднее содержание лизомустина во флаконе (в мг) –  $99,92 \pm 0,15$ ; относительная ошибка среднего результата количественного определения лизомустина в липосомальной дисперсии не превышала 0,16%.

### **А. В. Ланцова, О. И. Саквина, К. В. Костин, Н. А. Оборотова** **СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДИК АНАЛИЗА ЛИЗОМУСТИНА В ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ**

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

**Введение.** Лизомустин в лиофилизированной лекарственной форме разрешен для медицинского применения у взрослых при лечении меланомы кожи, мелкоклеточного и немелкоклеточного рака легкого. Для увеличения избирательности его противоопухолевого действия предложена липосомальная форма для внутривенного введения.

**Цель исследования.** Усовершенствование методик химико-фармацевтического анализа лизомустина для быстрого и точного определения препарата в липосомальной лекарственной форме.

**Материалы и методы.** Лизомустин – смесь изомеров положения нитрогруппы: 9- (2-хлорэтил)-7-нитрозо-L-гомоцитруллин (I) и 9- (2-хлорэтил)-9-нитрозо-L-гомоцитруллин (II) (ФСП 42-0494003, ООО «АКАДЕМФАРМА»).

**Результаты и обсуждение.** В качестве одного из основных критериев оптимальности разрабатываемой рецептуры и технологии получения липосомального лизомустина выбрали эффективность включения препарата в формируемые липосомы. Спектрофотометрическую методику применили для оценки количественного содержания включенного в везикулы хроматограм после очистки дисперсии липосом от невключенного препарата методом диализа. Основным методом анализа для определения примесей в липосомальной лекарственной форме лизомустина является метод тонкослойной хроматографии (ТСХ). Системой растворителей в данном методе является спирт н-бутиловый : кислота уксусная : вода – 12 : 3 : 5. Установлена возможность разделения всех входящих в липосомальную форму компонентов при проявлении хроматограм раствором нингидрина и параиода. Вспомогательные компоненты липосомальной формы проявляются на хроматограммах в виде четких пятен, не мешая определению как самого лизомустина, так и специфических примесей, характерных для субстанции.

Редиспергирование липидной пленки при получении липосомальной дисперсии лизомустина для лиофилизации проводили 1%-ным раствором лизомустина с добавлением криопротектора. Размер липосом определяли до и после замораживания, а так же после лиофилизации. После изучения влияния замораживания на структуру липосом (при  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  и выдерживании в течение 3 ч) дисперсию размораживали при комнатной температуре и определяли средний диаметр липосом на приборе «Наносайзер» (Submicron Particulate Sizer Nicomp 380, США). Экспериментальные исследования показали, что углеводы защищают липосомальную мембрану от разрыва в процессе замораживания, так как размороженные липосомы практически не изменились в размере. Влияние сублимации и состава криопротекторов (сахарозы, лактозы и маннита) проверяли после лиофильной сушки замороженных препаратов при нагреве полков до  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  со скоростью  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$  в час. Распределение липосом по размерам определяли после регидратации лиофилизатов водой для инъекций. Показано, что маннит при лиофилизации является хорошим формообразующим компонентом (мелкокристаллический лиофилизат), но средний диаметр липосом с маннитом увеличился в 5 раз (от 107 до 530 нм). Однако после лиофилизации липосомальной дисперсии с лактозой или с сахарозой структура липосом с лизомустином не изменились.

**Выводы.** Разработана СФ-метрическая методика, позволяющая определять лизомустин в липосомальной дисперсии и лиофилизате. Модифицированный метод ТСХ обнаруживает все компоненты, входящие в состав липосом. Определение гомогенности и среднего диаметра липосом методом лазерного светорассеивания дает возможность следить за качеством препарата как в процессе приготовления водной дисперсии, так и в процессе выбора режимов замораживания и лиофилизации лекарственной формы.

М. Ю. Ларин<sup>1</sup>, П. К. Иванов<sup>1</sup>, Д. Ю. Блохин<sup>1</sup>,  
В. И. Филиппов<sup>2</sup>, О. Л. Еришов<sup>3</sup>

### МАГНИТОУПРАВЛЯЕМЫЕ ИММУНОСОРБЕНТЫ НА ОСНОВЕ НОСИТЕЛЕЙ С ПОКРЫТИЕМ ИЗ ДИОКСИДА КРЕМНИЯ

<sup>1</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН,

<sup>2</sup>Институт биохимической физики им. Н. М. Эммануэля РАН,  
Москва

<sup>3</sup>ФГУП ГНИИ химии и технологии элементоорганических соединений, Москва

**Введение.** В настоящее время в различных областях клинической и экспериментальной медицины все более широкое применение находят гомогенные по иммунофенотипу фракции клеток. Одним из наиболее эффективных методов получения таких клеточных фракций является магнитная сепарация, в основе которой лежит взаимодействие клеток определенного типа с магнитоуправляемым иммуносорбентом и последующее их выделение в приложенном неоднородном магнитном поле.

**Цель исследования.** Создание магнитоуправляемых иммуносорбентов для разделения клеток периферической крови или костного мозга методом негативной селекции.

**Материалы и методы.** В качестве магнитоувствительного компонента иммуносорбентов использовали магнетит, обладающий свойствами мягкого ферромагнетика. Для получения водных суспензий магнетита с размерами частиц менее 1 мкм применялся метод ультразвукового диспергирования.

Матрицу сорбента формировали путем поликонденсации кремнийорганического олигомера с одновременным осаждением образующегося композита на частицах магнетита в водной фазе.

Для стандартизации частиц носителя по размерам использовали метод корреляционной спектроскопии светорассеяния (Nicompr 380, Nicomp PSS). Магнитные характеристики определяли с помощью вибрационного магнитометра.

Конъюгирование частиц носителя с моноклональными антителами серии ICO проводили после активации матрицы из диоксида кремния тетрахлоридом титана. Количественную оценку связывания антител с носителем проводили путем спектрофотометрического определения концентрации белка и методом простой радиальной иммунодиффузии в геле.

**Результаты.** Разработана технология получения и созданы образцы магнитоуправляемых иммуносорбентов на основе носителей с покрытием из диоксида кремния и моноклональных антител ICO-90, ICO-86, ICO-31, ICO-115, ICO-180 со следующими характеристиками: размер частиц 0,5...0,6 мкм; намагниченность насыщения  $41\pm 3\text{ кА}\cdot\text{м}^{-1}$ ; остаточная намагниченность  $1,14\pm 0,15\text{ кА}\cdot\text{м}^{-1}$ ; удельная загрузка антителами до 50 мкг на 1 мг носителя.

И. Г. Меерович<sup>1</sup>, Д. Г. Гуревич<sup>1</sup>, Г. А. Меерович<sup>2</sup>,  
С. И. Воробьев<sup>2</sup>, В. Г. Певзов<sup>2</sup>, З. С. Смирнова<sup>1</sup>,  
Н. А. Оборотова<sup>1</sup>, Е. А. Лукьянец<sup>5</sup>, А. Ю. Барышников<sup>1</sup>  
**ВЛИЯНИЕ РАЗМЕРОВ ЛИПОСОМ  
НА УРОВЕНЬ И СЕЛЕКТИВНОСТЬ  
НАКОПЛЕНИЯ ТИОСЕНСА В ОПУХОЛИ**

<sup>1</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

<sup>2</sup>ЦЕИИ институт общей физики им. А. М. Прохорова РАН, Москва

<sup>3</sup>МИТХТ им. М.В. Ломоносова, Москва

<sup>4</sup>ГКНПЦ им. Хруничева, Москва

<sup>5</sup>ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва

**Введение.** Одним из основных факторов, определяющих эффективность нанопрепаратов в онкологии, является размер наноструктур. Взаимодействие наноструктур с дефектами неоваскуляризации новообразований обеспечивает повышенное накопление в них включенного в наноструктуру препарата. В настоящей работе исследовалось влияние размер липосом на уровень и селективность накопления в опухоли инфракрасного фотосенсибилизатора тиосенс (липосомальной формы фенилтиофталоцианина алюминия гидроксида).

**Материалы и методы.** Липосомы были получены методом Бенгема. Липофильная субстанция [(PhS)<sub>4</sub>PcAlOH] была введена в липидный бислой. Уменьшение размеров липосом обеспечивалось использованием миниэкструдера «Avanti Mini-Extruder» (США) и гомогенизатора высокого давления «Донор-1» (Россия). Размер липосом определялся методом лазерной корреляционной спектроскопии. Исследования уровня и селективности накопления тиосенса в опухоли проводились *in vivo* лазерно-флюоресцентным методом. Для исследований использовались мыши F<sub>1</sub> с опухолью Эрлиха (ELD), перерезанной внутримышечно в правую заднюю лапу за 6 дней до опыта. Фотосенсибилизатор вводился в хвостовую вену в дозе 4 мг/кг веса животных.

**Результаты.** Был проведен ряд экспериментов, в которых сравнивались уровни накопления тиосенса при различном распределении липосом по диаметру. Было показано, что селективность и накопление липосомального препарата определяется в основном содержанием фракций с диаметром менее 150 нм, в то время, как крупные фракции быстро выводятся из плазмы крови, предположительно из-за поглощения ретикулоэндотелиальной системой, и не вносят существенного вклада в накопление фотосенсибилизатора.

Работа к.б.н. И. Г. Мееровича поддержана грантом Президента Российской Федерации для молодых ученых-кандидатов наук МК-6258.2006.4.

*А. П. Полозкова, Е. В. Тазина, О. Л. Орлова, Е. В. Игнатъева, Н. Д. Бунятян, Н. А. Оборотова, О. И. Тарасова*  
**РАЗРАБОТКА ОПТИМАЛЬНОГО СОСТАВА ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ СТЕРИЧЕСКИ СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ ЛИПОСОМ**

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

**Введение.** Повышение эффективности лекарственной терапии злокачественных новообразований продолжается по разным направлениям, в том числе для комбинированного воздействия на опухоли в последние годы разрабатывается метод химиотерапии совместно с локальной гипертермией.

**Цель исследования.** Разработка оптимального состава термочувствительных стерически стабилизированных липосом с доксорубицином (Dox), позволяющих в сочетании с локальной гипертермией увеличить селективность противоопухолевого действия препарата.

**Материалы и методы.** Дипальмитоилфосфатидилхолин (DPPC), дистеароилфосфатидилхолин (DSPC), пегилированный дистеароилфосфатидилэтаноламин (PEG-2000-DSPE) фирмы Lipoid; холестерин (Chol) (Sigma); кардиолипин-стандарт 0,5% раствор в спирте этиловом 95% (Минмедбиопром, г. Харьков) и доксорубицин (ICN Biomedicals, Inc).

Липосомы с доксорубицином получали pH-градиентным методом с молярным соотношением липидов DPPC, DSPC, ПЭГ-липид – 9 : 1 : 0,02 (состав 1). Для увеличения твердости мембраны и для лучшего удерживания в липосоме доксорубицина к составу 1 добавили холестерин и отрицательно заряженный кардиолипин в соотношении 6 : 1 (состав 2). Весовое соотношение доксорубицин : липиды составило 1 : 5 в обоих случаях. 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 с сефадексом G-50 (элюент – вода). Содержание доксорубицина в липосомах определяли методом спектрофотометрии при длине волны 252±2 нм.

**Результаты.** Получены моноамеллярные липосомы с размером от 140 до 180 нм для состава 2 и от 190 до 230 нм для состава 1. Содержание доксорубицина в 1 мл липосомальной дисперсии с холестерином и кардиолипином составило 0,119 мг/мл, а для состава 1 – 0,073 мг/мл. Включение доксорубицина в состав 1 липосом оказалось около 45 %, тогда как в состав 2 липосом включилось не менее 75 % доксорубицина.

**Выводы.** Таким образом, показано преимущество состава термолипосом доксорубицина, включающего в себя наряду с термозависимыми липидами холестерин и кардиолипин.

*Разработка поддержана грантом Федерального государственного унитарного предприятия «Государственный научный центр «НИОПИК» (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК»).*

*А. П. Полозкова, Е. В. Тазина, О. Л. Орлова, Е. В. Игнатъева, Н. Д. Бунятян, Н. А. Оборотова*  
**ПОЛУЧЕНИЕ ТЕРМОЗАВИСИМОЙ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ДОКСОРУБИЦИНА**

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

**Введение.** Большой раздел современных исследований посвящен разработке липосомального носителя, гарантирующего направленную доставку и контролируемое высвобождение инкапсулированного лекарственного вещества в опухолевые ткани. Идея термочувствительных липосом заключается в их способности высвобождать препарат в ответ на действие локальной гипертермии, в процессе которой опухоль нагревается до 41–43 °С.

**Цель исследования.** Разработка технологии получения термочувствительных липосом с доксорубицином, способствующих увеличению избирательности противоопухолевого действия препарата.

**Материалы и методы.** Дипальмитоилфосфатидилхолин (DPPC), дистеароилфосфатидилхолин (DSPC), пегилированный дистеароилфосфатидилэтаноламин (PEG-2000-DSPE) фирмы Lipoid; холестерин (Chol) (Sigma); кардиолипин-стандарт 0,5 % раствор в спирте этиловом 95 % (Минмедбиопром, г. Харьков) и доксорубицин (ICN Biomedicals, Inc).

Липосомы с доксорубицином получали методом «обращения фаз» и с использованием pH-градиента. Молярное соотношение липидов в обоих случаях – 9 : 1 : 0,02. Согласно методу «обращения фаз» смешивали 1%-ный водный раствор доксорубицина с раствором липидов в хлороформе и озвучивали в течение 15 мин. Органический растворитель выпаривали при 37 °С. Далее липосомы измельчали путем повторного озвучивания в течение 30 мин.

В соответствии с pH-градиентным методом смесь липидов растворяли в хлороформе с подкислением 300 мМ раствором лимонной кислоты до pH 4,0 и последующим озвучиванием. Органический растворитель отгоняли при 60 °С. Охлажденную до комнатной температуры дисперсию подщелачивали 1М раствором едкого натра до pH 7,8. Затем липосомы термостатировали при 60 °С в течение 5 мин, смешивали с предварительно нагретым до той же температуры водным раствором доксорубицина (весовое соотношение препарат : липид – 1 : 5) и повторно инкубировали при 60 °С в течение 15 мин.

Размер липосом определяли на приборе Submicron Particle Sizer Nicomp-380 (США), содержание доксорубицина в липосомах – методом спектрофотометрии при длине волны 252±2 нм по величине оптической плотности.

**Результаты.** Средний диаметр липосом с доксорубицином, полученных методом «обращения фаз», составил 400 нм, а липосом, полученных «рН-градиентным» методом, – 195 нм. Липосомы с доксорубицином, полученные методом «обращения фаз», оказались большего размера и не удерживали доксорубицина в процессе как диализа, так и последующего хранения.

**Вывод.** Из 2 предложенных методов получения термолипосомального доксорубицина наиболее приемлем метод pH-градиента, однако включение препарата в липосомы не превышало 60 %. Поэтому продолжены работы по повышению эффективности включения доксорубицина в липосомы.

*Разработка поддержана грантом Федерального государственного унитарного предприятия «Государственный научный центр «НИОПИК» (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК»).*

*А. П. Полозкова, М. А. Кортова, Н. А. Томашевская, О. Л. Орлова, Е. В. Игнатъева, Н. А. Оборотова*  
**ВЫБОР КРИОПРОТЕКТОРА ДЛЯ ЛИОФИЛИЗАЦИИ ЛИПОСОМАЛЬНОГО ФОТОСЕНСА**

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

**Введение.** Фотосенс применяется в ФДТ и флюоресцентной диагностике рака. С целью снижения нежелательной высокой кожной фоточувствительности, обусловленной длительным удерживанием препарата в коже, разрабатывается липосомальная лекарственная форма фотосенса, для стабилизации которой используется сублимационная сушка. Обязательное условие целостности везикул при лиофилизации – наличие криопротектора, который обеспечивает снижение температуры фазового перехода липидов, входящих в состав бислоя, и сохраняет их в жидкокристаллическом состоянии.

**Цель исследования.** Выбор криопротектора для создания лиофилизированной липосомальной лекарственной формы фотосенса.

**Материалы и методы.** Фосфатидилхолин (Lipoid, Германия); пегилированный дистеароилфосфатидилэтаноламин (PEG-2000-DSPE) (Lipoid, Германия); холестерин (Chol) (Sigma); сахароза (ГОСТ 5833-75), маннит, глюкоза, лактоза. Наиболее удобный и информативный параметр, характеризующий изменения в дисперсионной системе, – размер липосом, который измеряли до и после замораживания и лиофилизации на приборе «Наносайзер» (Submicron Particale Sizer Nicomp 380, США). Распределение липосом по среднему диаметру и однородность дисперсии определяли после регидратации лиофилизатов водой для инъекций. Включение фотосенса в липосомы определяли СФ-метрически.

**Результаты.** Полученные результаты свидетельствуют о различном влиянии углеводов на размер липосом в процессе их образования, замораживания и сушки. При использовании маннита, лактозы или сахарозы получили более мелкие по размеру липосомы, чем с глюкозой. Несмотря на то, что маннит при лиофилизации оказался хорошим формообразующим компонентом (мелкокристаллический лиофилизат), средний диаметр липосом с маннитом после лиофилизации увеличился в 3,5 раза. После лиофилизации с лактозой или са-

харозой диаметр липосом не изменился. Лиофилизация липосом со смешанными криопротекторами лактоза-маннит или сахароза-маннит также не привела к уменьшению кристаллов лиофилизата.

**Выводы.** По критериям среднего диаметра липосом, однородность дисперсий, количество включенного фотосенса, структура лиофилизата и возможность его регидратации отобран криопротектор сахараза. По внешнему виду полученный лиофилизат представляет собой крупнокристаллическую однородную сухую массу сине-зеленого цвета. Средний диаметр липосом фотосенса с сахарозой не превышал 250 нм.

*Разработка поддержана грантом Федерального государственного унитарного предприятия «Государственный научный центр «НИОПИК» (ФГУП «ГНЦ «НИОПИК»).*

*Н. Я. Рапопорт*

### МУЛЬТИФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ КОМБИНИРОВАННОГО ИМАДЖИНГА И ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ

*Университет штата Юта, Солт-Лейк-Сити, США*

Возможность комбинирования в одной лекарственной форме лекарственной субстанции и ультразвукового контрастирующего агента – одна из научных проблем, вызывающих в настоящее время повышенный интерес. Современные нанотехнологии позволяют создать новый класс лекарственных форм на базе микроэмульсий, содержащих полимерные мицеллы. Эзогенные свойства таких систем позволяют одновременно использовать их как эффективные ультразвуковые контрастирующие агенты. Недавно нами были разработаны биодеградируемые наноэмульсии, диспергируемые в растворе полимерных мицелл; при этом наночастицы наноэмульсии инкапсулируются в микровезикулах, которые могут быть стабилизированы биодеградируемым сополимером – тем же, из которого образованы мицеллы, либо другим. Микровезикулы усиливают инициированное ультразвуком высвобождение лекарственной субстанции из мицелл и облегчают ее проникновение в клетку. Разрабатываемые нами микровезикулы отличаются от коммерческих образцов или разработок других групп тем, что: 1) они получают *in situ* при введении специально разработанных микроэмульсий; 2) стенки микровезикул образованы из биодеградируемого диблок-сополимера; 3) тот же диблок-сополимер, что образует стенки микровезикул, образует и полимерные мицеллы, которые эффективно инкапсулируют химиотерапевтические субстанции; 4) после введения препарата местное ультразвуковое воздействие на опухоль, сенсibilизированную микровезикулами, обеспечивает эффективное введение лекарства в клетки опухоли.

Эти системы могут быть применены различным образом, в частности, для диагностической эхографии, эхографически контролируемой химиотерапии, генной доставки и т.д.

Применение разработанных систем для эхографии опухолей позволило при использовании клинической сканирующей системы Acuson Sequoia с частотой 14 МГц обеспечить четкое выявление малых метастазов рака молочной железы в селезенке мыши. При химиотерапии подкожно перевитого рака молочной железы путем комбинирования системного введения микроинкапсулиро-

ванного доксорубина с местным воздействием на опухоль импульсным ультразвуком с частотой 3 МГц были получены хорошие результаты.

*М. А. Рубцова<sup>1</sup>, А. Н. Сомов<sup>2</sup>, З. А. Соколова<sup>1</sup>,*

*Е. В. Игнатьева<sup>1</sup>, А. Ю. Барышников<sup>1</sup>*

### АНТИ-CD5 ИММУНОЛИПОСОМЫ, НАГРУЖЕННЫЕ ДОКСОРУБИЦИНОМ: АНТИГЕНСПЕЦИФИЧНОСТЬ И ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ *IN VITRO*

*<sup>1</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва*

*<sup>2</sup>ФГУН ГНЦПМБ, пос. Оболенск*

**Введение.** Один из способов, позволяющих уменьшить побочное действие на нормальные клетки и увеличить терапевтический эффект лекарственных средств, – доставка препаратов с помощью иммунолипосом. Иммунолипосомы представляют собой липосомы, к которым прикреплены моноклональные антитела (МКА), обеспечивающие специфическое связывание липосом с антиген-позитивными клетками, а липосомы несут соответствующий гидрофобный или гидрофильный химиотерапевтический препарат.

**Цель исследования.** Получение анти-CD5 иммунолипосом, нагруженных противоопухолевым препаратом доксорубицином, для их адресной доставки к опухолевым клеткам-мишеням.

**Материалы и методы.** Липосомы готовили гидратацией лиофилизованной липидной пленки в соответствующем буферном растворе. Включение доксорубина проводили по принципу активной загрузки при искусственно созданных трансмембранных градиентах pH. МКА ICO-80 к пара-нитрофенилкарбонильной группе активированного полиэтиленгликоль-липидного конъюгата присоединяли с образованием карбаматной связи. Количество молекул антител на одну липосому определяли по бицихониновой кислоте согласно стандартной методике. Включение доксорубина определяли спектрофотометрически. Способность иммунолипосом специфически связываться с антигеном определяли в реакции прямой иммунофлюоресценции, для чего использовали МКА, конъюгированные с FITC (флюоресцентиниотианатом), ICO80 и бараньи антитела к иммуноглобулину мыши (НПЦ «МедБиоСпектр», Россия). Цитотоксичность полученных препаратов иммунолипосом оценивали в МТТ-тесте согласно стандартной методике.

**Результаты.** Для конъюгации с липосомами были наработаны МКА ICO80 в достаточном количестве. Была создана методика получения иммунолипосом типов А и В, нагруженных противоопухолевым препаратом доксорубицином. Количество молекул антител, связанных с поверхностью липосом, составило 45–80 молекул белка на липосому; процент включения доксорубина варьировал от 58 до 85 %. На клеточной линии Jurkat и клетках периферической крови здоровых доноров продемонстрирована способность полученных иммунолипосом, содержащих МКА ICO80, специфически связываться с антигеном CD5 *in vitro* в 75–100 % случаев. На клеточной линии Jurkat показана цитотоксическая активность иммунолипосомальной формы доксорубина.

**Выводы.** Таким образом, получены анти-CD5 иммунолипосомы, способные специфически связываться с антигеном и обладающие цитотоксической активностью *in vitro*.

# ФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ

А. П. Баранов, С. Н. Корякин, С. Е. Ульяненко,  
В. А. Ядровская, Е. П. Савина

## АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ BSH И ВРА С ЦЕЛЬЮ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ НЕЙТРОНОЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ

ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск

В настоящее время главной проблемой борнейтронозахватной терапии (БНЗТ) является отсутствие высокотропных к опухоли борсодержащих соединений. Применяемые на практике соединения (BSH и ВРА) далеки от идеальных, однако это пока единственные препараты, в определенной мере удовлетворяющие требованиям БНЗТ. Исследования внутриклеточного накопления ВРА и BSH показали, что BSH проникает в клетку посредством пассивной диффузии, а ВРА проходит клеточную мембрану через L-аминокислотную транспортную систему. При этом внутри клетки BSH распределяется равномерно, а ВРА гетерогенно, с преимущественным накоплением в ядре и цитоплазме, и со значимо меньшим содержанием в окооядерной области (митохондрии, аппарат Гольджи). Расчеты с помощью программы Монте-Карло показали, что в случае, когда  $^{10}\text{B}$  локализован во внеклеточном пространстве, доза на ядро после облучения тепловыми нейтронами составляет 10 % дозы, получаемой при равномерном распределении такого же количества бора по всей клетке, то есть внутриклеточная локализация бора имеет для БНЗТ определяющее значение. В связи с тем, что BSH и ВРА имеют различные пути поступления в опухолевую клетку и как следствие различные места локализации, представляет интерес совместное использование этих соединений. Комбинированное использование BSH и ВРА позволяет значительно повысить эффективность НЗТ при облучении мышей со сквамозной карциномой SCCVII, крыс с глиомой F98 по сравнению с раздельным введением соединений. Исследования также показали, что вклад бора, включенного в состав BSH и ВРА, в суммарной концентрации бора в опухоли у разных пациентов варьирует в широких пределах. Также из-за различной локализации в клетке при БНЗТ эти соединения проявляют различное радиобиологическое действие, поэтому для расчета поглощенной дозы необходимо знать концентрацию бора для каждого соединения. Существующие рутинные методы определения концентрации бора с данной задачей справиться не могут. Одним из подходов к решению этой проблемы, развиваемый в последние годы в МРНЦ РАМН, является использование BSH, меченного индикаторными количествами радиоактивного йода, который вводится совместно с ВРА. При этом появляется возможность определять концентрацию бора, включенного в состав BSH, по радиоактивности йода и затем исключать из суммарной концентрации бора для расчета концентрации ВРА.

## Г. И. Борисов, Т. М. Варгина, Р. И. Кондратенко ЭЛЕМЕНТАРНАЯ ТЕОРИЯ $^{10}\text{B}$ НЗТ НА ТЕПЛОВЫХ НЕЙТРОНАХ

ФГУ РНЦ «Курчатовский институт», Москва

Основой теории является ранее введенное нами понятие эффективной массы облучаемой тепловыми нейтронами ткани  $M_{эфф.}$  определяемой в соответствии с выражением:

$$M_{эфф.} \left( \frac{dN_{яд.p.}}{dm} \right)_{\max.} = N_{яд.p.} \quad (1)$$

где  $N_{яд.p.}$  – число ядерных реакций в облучаемом объекте.

Для узких пучков нейтронов ( $S_{пуч.} \ll S_{эфф.}$ ),

где  $S_{пуч.}$  – площадь пучка нейтронов, а  $S_{эфф.}$  – максимальная

площадь сечения  $M_{эфф.}$ , принимаемая за сферическую.  $M_{эфф.}$  может быть рассчитана из выражения, вытекающего из (1.1):

$$M_{эфф.} = \frac{(1-\beta)S_{пуч.}}{\Sigma_a} \quad (2)$$

где  $\beta$  – альbedo облучаемого объекта, а  $-\Sigma_a$  – макроскопическое сечение поглощения тепловых нейтронами ( $S_{пуч.} \approx S_{эфф.}$ ) объектом.

Для широких пучков нейтронов эффективная толщина облучаемой тепловыми нейтронами ткани  $m_{эфф.}$  ( $\text{г} \cdot \text{см}^{-2}$ ) может быть вычислена из выражения:

$$m_{эфф.} = \frac{(1-\beta)}{(1+\beta)\Sigma_a} \quad (3)$$

Средняя энергия, соответствующая поглощению одного нейтрона в облучаемом объекте  $\bar{E}_n$ , рассчитывается в соответствии с формулой:

$$\bar{E}_n = \frac{(\Sigma_H E_{\gamma,H} \delta_{\gamma,H} + \Sigma_N E_{p,N} + \Sigma_{10B} E_{10B})}{\Sigma_a} \quad (4)$$

где  $\delta_{\gamma,H}$  – доля энергии фотонов из реакции радиационного поглощения нейтронов водородом, поглощенная в эффективной массе.

Плотности потоков тепловых нейтронов  $\Phi_{теп.}$  в узком (формула (5)) и широком (формула (6)) пучке, необходимые для создания в облучаемом объекте мощности поглощенной дозы  $W = 30 \text{ Гр} \cdot \text{час}^{-1}$  рассчитываются в соответствии с формулами:

$$\Phi_{теп.}^{узкий} = \frac{WM_{эфф.}}{S_{пуч.} \bar{E}_n}, \quad \Phi_{теп.}^{широкий} = \frac{Wm_{эфф.}}{\bar{E}_n} \quad (5),(6)$$

Керма быстрых нейтронов  $K$  этих пучков не должна превосходить значений, определяемых выражениями (7) и (8):

$$K_{быс.}^{узкий} = \frac{kS_{пуч.} \bar{E}_n (1-R_{Cd})}{M_{эфф.} R_{Cd}}, \quad K_{быс.}^{широкий} = \frac{k\bar{E}_n (1-R_{Cd})}{m_{эфф.} R_{Cd}} \quad (7),(8)$$

Где  $k$  – отношение максимальной дозы создаваемой в реакциях рассеяния быстрых нейтронов к максимальной поглощенной дозе тепловых нейтронов,  $R_{Cd}$  – отношение плотности потока нейтронов с энергией, большей 0,4эВ, к полному потоку нейтронов.

Результаты расчетов  $M_{эфф.}$ ,  $m_{эфф.}$ ,  $\Phi_{теп.}^{узкий}$ ,  $\Phi_{теп.}^{широкий}$ ,  $K_{быс.}^{узкий}$ ,  $K_{быс.}^{широкий}$ ,

для  $S_{пуч.} = 0,3 \text{ см}^2$ ,  $k = 0,05$  и  $R_{Cd} = 0,25$ .

Пучок	$M_{эфф.}$ , $\text{г}$	$m_{эфф.}$ , $\text{г} \cdot \text{см}^{-2}$	$\Phi_{теп.}$ , $\text{см}^{-2} \cdot \text{с}^{-2}$	$K_{быс.}$ , $\text{Гр} \cdot \text{см}^2$
Узкий	2	–	$5,3 \cdot 10^8$	$24 \cdot 10^{-13}$
Широкий	–	3,2	$2,5 \cdot 10^8$	$50 \cdot 10^{-13}$

Получение пучков с указанными характеристиками не является серьезной проблемой на касательном ГЭК №7 реактора ИР-8 РНЦ «Курчатовский институт».

## В. В. Вальский, С. В. Саакян, М. Г. Жильцова СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ ЛИМФОМ КОНЬЮНКТИВЫ

ФГУ МНИИ глазных болезней им. Гельмгольца Росздрава, Москва

По данным литературы, частота злокачественных лимфом орбиты и придаточного аппарата глаза составляют 4 % всех экстраорбитальных лимфом. Лимфомы конъюнктивы составляют около 1/3 от числа всех злокачественных лимфом органа зрения, преобладает первичное поражение. По классификации REAL большинство первичных лимфом конъюнктивы являются MALT-омами низкой степени злокачественности. Такие новообразования требуют только местного лечения.

Лимфомы придаточного аппарата глаза относятся к радиочувствительным опухолям. Традиционный метод лечения лимфопролиферативных заболеваний конъюнктивы – дистанционная лучевая терапия. Для лимфопролиферативных заболеваний конъюнктивы характерно как синхронное, так и метакронное вовлечение в процесс всех 4 конъюнктивальных сводов. Повторное облучение одного и того же глаза приводит к таким тяжелым осложнениям, как лучевая кератопатия, лучевая катаракта, вторичная гипертензия.

Метод контактной лучевой терапии – брахитерапия с источниками бета-излучения – широко применяется для лечения злокачественных опухолей (рак, меланома) придаточного аппарата глаза. Метод брахитерапии позволяет подводить высокие очаговые терапевтические дозы к опухоли с минимальной лучевой нагрузкой на здоровые структуры глаза и орбиты, что объясняется особенностью распределения бета-частиц в биологической ткани. Различные формы и размеры аппликаторов дают возможность создать практически любую конфигурацию поля облучения. Бета-аппликационная терапия – высокоэффективный метод лечения лимфом конъюнктивы без риска развития лучевых осложнений.

Обязательное условие лучевого лечения – морфологическое подтверждение диагноза.

Пролежено 52 больных в возрасте от 16 до 76 лет. Локализация поражения: 1 свод – 21 больной, 2 свода – 26, конъюнктив глаза – 6. Двустороннее поражение было отмечено в 23 % случаев. В зависимости от распространенности опухоли облучение производили в 1–4 поля. Установлено, что суммарная очаговая доза (СОД) в 100 Гр на основании лимфомы, подведенная крупными фракциями за 5 сеансов, приводит к полной регрессии новообразования и не вызывает каких-либо побочных действий на здоровые ткани. СОД рассчитывали на основании опухоли с учетом ее исходной толщины. Облучение осуществляли ежедневно. Разовая доза составила 1/5 от СОД. При профилактическом облучении СОД составила по 100 Гр на каждый конъюнктивальный свод (пораженного и здорового глаза) при разовой дозе 20 Гр, т.е. за 5 фракций.

Лучевая реакция в опухоли и облученных тканях развивалась к концу лечения, она проявлялась гиперемией и отеком новообразования, мелкоточечными гемorragиями. Специального лечения лучевая реакция не требовала, было достаточно инстилляций дезинфицирующих и витаминных капель.

Резорбция опухоли происходила на протяжении 1–1,5 мес.

Локальный контроль достигнут у всех пациентов, полная резорбция – у 44 (85 %), в остальных случаях наблюдалась частичная резорбция и длительная стабилизация. Сроки наблюдения за лечеными больными составили от 3 мес до 10 лет, медиана – 5,12 года. Появление метакронных лимфом конъюнктивы не отмечено.

Таким образом, предложенный способ бета-аппликационной терапии лимфом конъюнктивы позволяет добиться стойкой локальной ремиссии у подавляющего числа больных без риска развития тяжелых лучевых осложнений, предотвратить появление новых очагов роста лимфом, а также существенно (в 3–4 раза) сократить сроки лечения и реабилитации.

*И. В. Вихлянов, С. А. Лазарев, Г. М. Гликенфрейд*

### ФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ПОЛОСТИ РТА И РОТОГЛОТКИ

*Алтайский филиал ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Барнаул  
ГУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер», Барнаул*

**Введение.** Комплексное лечение опухолей орофарингеальной зоны включает на одном из этапов оперативные вмешательства на первичном очаге. Высокий удельный вес послеоперационных осложнений (до 40–70 %) делает актуальным поиск методик, направленных на снижение их количества.

**Задача исследования.** Оценка возможностей общей магнитотерапии в профилактике осложнений раннего послеоперационного периода у больных с опухолями орофарингеальной зоны.

**Материалы и методы.** Лечение получали больные раком орофарингеальной зоны (97 пациентов) после 2 курсов неoadвантанной внутриартериальной регионарной химиотерапии: цисплатин + 5-фторурацил с последующим проведением расширенно-

комбинированных операций на первичном очаге и зонах лимфооттока. Магнитное поле использовалось на этапе послеоперационного ведения больных с целью профилактики осложнений раннего послеоперационного периода (количество процедур – 10, частота поля 120 Гц, напряженность 10–15 эрстед) (патент РФ № 2249470).

Для сравнительной оценки частоты и характера послеоперационных осложнений в исследование была введена группа сравнения из 110 человек, получивших комбинированное (хирургическое и лучевое) лечение. В 1-ю подгруппу группы сравнения вошли 49 пациентов, получивших предоперационную лучевую терапию, во 2-ю – 61 больной с послеоперационной лучевой терапией. Объемы оперативных вмешательств в основной группе и группе сравнения были сопоставимы.

**Результаты.** У больных основной группы осложнения в раннем послеоперационном периоде наблюдались в 14,4 % случаев. В группе сравнения их было больше на 18,1 %. У пациентов, которым проводилась предоперационная лучевая терапия, осложнения наблюдались чаще, чем в основной группе, на 29,4 %. У больных с послеоперационной лучевой терапией число осложнений было больше на 9,1 %.

**Выводы.** Общая магнитотерапия с целью коррекции осложнений раннего послеоперационного периода у больных плоскоклеточным раком полости рта и ротового отдела глотки позволяет значительно снизить их количество и уменьшить тяжесть осложнений.

*Д. Н. Воргова, Л. Э. Брежнева, Е. С. Привалова,*

*Е. Ю. Веремиев, А. В. Важенни*

### ВОЗМОЖНОСТИ ЭХОГРАФИИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ШЕЙКИ МАТКИ

*ГОУ ВПО «ЧелГМА» Росздрава, Челябинск*

*ПНИЛ ЮУНЦ РАМН, Челябинск*

*Областной онкологический диспансер, Челябинск*

**Задачи исследования.** 1. Изучить распространенность опухолевого процесса у больных раком шейки матки III стадии. 2. Оценить эффективность лечения больных. 3. Выявить постлучевые осложнения у больных раком шейки матки в ближайшие сроки после лечения с помощью эхографии.

**Материалы и методы.** Ультразвуковые исследования проведены 23 больным раком шейки матки III стадии, получавшим лечение на базе Челябинского областного онкологического диспансера. Химиолучевое лечение получили 78,5 % пациенток, химиолучевое лечение с применением трансцервикальной термотерапии в качестве радиомодификации – 17,5 % больных, сочетанное лучевое лечение – 4,3 % больных. Исследования выполнены на цифровых ультразвуковых сканерах: 1. HITACHI 6500, с конвексным многочастотным датчиком 2,5–5 МГц; 2. IMAGE POINT HX (HEWLETT PACKARD), с конвексным многочастотным датчиком 2,5–5,0 МГц, внутриволновым многочастотным датчиком 5,0–7,5 МГц. Проведены ультразвуковые исследования органов брюшной полости и забрюшинного пространства. Ультразвуковые исследования органов малого таза проведены трансабдоминальным и трансвагинальным доступами.

**Результаты.** Ультразвуковые исследования проводили до лечения, в процессе лечения, а также через 1; 3 и 6 мес после лечения пациенткам с морфологически верифицированным раком шейки матки. При эхографии забрюшинного пространства в ряде случаев визуализировались пораженные парааортальные, подвздошные лимфоузлы, лимфоузлы в воротах почки, расширение чашечно-лоханочной системы одной или обеих почек. До начала и в процессе лечения при эхографии органов малого таза было выявлено распространение опухолевого процесса на тело матки (4,3 %), один яичник (8,7 %) или оба яичника (4,3 %). При положительной динамике, что наблюдалось у преобладающего числа пациенток, уменьшение объема шейки матки сопровождалось уменьшением систолической и диастолической скорости в сосудах опухоли. Выявлены осложнения лучевого лечения: расширение полости матки (30,4 %), выпот в малом тазу (22 %), цистит (35 %). У части пациенток в ближайшие сроки после проведенного лечения диагностировано: неизлеченность процесса (26 %), рецидивы в малом тазу (8,7 %), метастатическое поражение печени (4,3 % подтверждено морфологически).

**Выводы.** Эхография позволяет оценить распространенность опухолевого процесса у больных раком шейки матки, оценить эффективность лечения и выявить постлучевые осложнения.



58,3 % больных. Скорость капиллярного кровотока увеличилась в среднем с 0,013 мм в с до 0,019 мм в с. Одновременно с улучшением состояния микроциркуляции отмечался выраженный регресс ПНП. Вместе с этим 2 сеанса ЭУФОЛПК вызывали достоверное снижение растворимых CD95 и повышение мембранных молекул CD95, что свидетельствовало о влиянии кванта УФ-света на процессы апоптоза. При этом повышалась концентрация растворимых молекул CD50, CD38, HLA-1.

**Выводы.** ЭУФОЛПК существенно уменьшает клинические проявления ПНП у больных ММ и МГВ за счет изменения адгезивно-лигандных характеристик циркулирующих лимфоцитов, положительно влияющих на микроциркуляцию.

*А. В. Жинов, С. В. Городнов*

### ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ РАКА ПРЯМОЙ КИШКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВИХРЕВЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ

*Областной клинический онкологический диспансер, Ульяновск*

**Цель исследования.** Определить влияние на опухоль предоперационной лучевой терапии в сочетании с вихревыми магнитными полями в комбинированном лечении рака прямой кишки.

**Задачи исследования.** Изучить иммуногистохимические изменения рака прямой кишки после предоперационной лучевой терапии в сочетании с использованием вихревых магнитных полей как радиомодифицирующего фактора.

**Материалы и методы.** В соответствии с целью и задачами исследования было проведено иммуногистохимическое изучение 18 случаев рака прямой кишки. Материалом для исследования служили архивные блоки операционного материала. Материал получен до начала лечения и после оперативного вмешательства. Больные получили комбинированное лечение по 2 схемам: предоперационная лучевая терапия средними фракциями и предоперационная лучевая терапия в сочетании с магнитотерапией как радиомодифицирующего фактора. Курс магнитотерапии проводился одновременно с курсом лучевой терапии по предоперационной программе. Лечение проводилось в режиме радиомодификации – частота вращения поля – 100 Гр, индукция поля 2,3 мТл, форма импульса – синусоидальная, длительность цикла изменения индукции – 120 с, длительность сеанса 20 мин. Количество сеансов от 4 до 6. Лечение ВМП проводилось ежедневно, 1 раз в сут, за 15–45 мин до облучения.

**Результаты.** Иммуногистохимические исследования проведены с помощью набора моноклональных антител к белку Ki-67, bcl-2, раково-эмбриональному антигену (РЭА), Е-кадгерину, CD68 (маркеру гистиоцитов/макрофагов), белку p21, к антигену CD45RO, CD95/Fas. При лучевой терапии с использованием магнитотерапии отмечается выраженный эффект подавления пролиферативной активности, отсутствие влияния на bcl-2 и раково-эмбриональный антиген. Выявлена активация экспрессии Е-кадгерина, маркера межклеточных контактов. При предоперационной лучевой терапии без магнитотерапии Е-кадгерин остается без изменений. Не выявлено изменений CD68, белка p21, CD45 и CD95. При предоперационной лучевой терапии обнаружено усиление инфильтрации аденокарцином Т-лимфоцитами.

**Выводы.** После лучевой терапии с использованием магнитотерапии отмечен выраженный эффект подавления пролиферативной активности опухолевых клеток, усиление инфильтрации стромы аденокарцином Т-лимфоцитами, выявлена активация экспрессии Е-кадгерина, маркера межклеточных контактов. Это говорит о повышении степени межклеточных взаимодействий в опухоли и может свидетельствовать об усилении дифференцировки клеток аденокарцином.

*Р. Ш. Ишмуратова, Р. Д. Атнабаев, Р. Т. Аюпов, К. В. Меньшиков, З. Я. Халикова*

### ОПЫТ РАДИОЧАСТОТНОЙ ТЕРМОАБЛАЦИИ МЕТАСТАЗОВ В ПЕЧЕНЬ

*Башкирский государственный медицинский университет, Уфа*

**Введение.** Метастатическое поражение печени – самое частое проявление генерализации злокачественной опухоли и одна из ведущих причин смертности в онкологии. Наиболее радикальным средством лечения этой патологии остается хирургический метод, однако

резектабельность при злокачественных опухолях печени не превышает 15–20 %. Традиционно используемая системная химиотерапия далеко не всегда вызывает существенное увеличение выживаемости пациентов. В настоящее время наиболее перспективным направлением в лечении синхронных внутрипеченочных метастазов являются хирургические вмешательства, при которых одновременно удаляются первичная опухоль и метастазы в печени. В последние годы разработан и активно внедряется метод радиочастотной термоабляции, при которой опухоль разрушается нагреванием до температуры более 100 °С из-за смены направления движения ионов под воздействием высокочастотного (460 кГц) тока. Контроль температуры позволяет убедиться в эффективности абляции и обеспечить частоту локального рецидивирования меньше 10 %.

**Материал и методы.** На базе Башкирского республиканского клинического онкологического диспансера с августа 2006 г. 27 пациентам с генерализованным колоректальным раком и раком молочной железы выполнена радиочастотная термоабляция метастазов в печень с использованием электрохирургического радиочастотного генератора RITA Medical Systems 1500X. Процедура выполнялась интраоперационно под УЗИ-контролем вместе с удалением первичной опухоли 17 пациентам, 10 – отсрочено, из отдельного мини-доступа по Кохеру. Размеры метастазов варьировали от 1,5 до 8 см с преимущественной локализацией в 4; 5 и 6 сегментах. Абляция проводилась при достижении температуры 105 °С.

**Результаты.** Критерием радикальности процедуры считалось превышение зоны абляции размеров метастаза на 1,0–1,5 см с каждой стороны. Осложнений при абляции не было. В раннем послеоперационном периоде летальных исходов, гнойных осложнений не отмечено, течение послеоперационного периода особенностей не имело. Все пациенты за время наблюдения живы, роста обработанных метастазов при УЗИ-контроле не отмечалось, появление других метастатических очагов отмечено у 1 пациента.

**Выводы.** Необходимо расширять показания к хирургическому лечению генерализованного рака с использованием современных органосохраняющих технологий. Радиочастотная термоабляция с использованием аппарата RITA – эффективный и безопасный метод лечения метастатического поражения печени, который целесообразно комбинировать с другими методами.

*Р. Ш. Ишмуратова, Р. Д. Атнабаев, Н. В. Наумова*

### ОПЫТ СОЧЕТАНИЯ РЕГИОНАРНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ С РАДИОЧАСТОТНОЙ ТЕРМОАБЛАЦИЕЙ МЕТАСТАЗОВ В ПЕЧЕНЬ

*Башкирский государственный медицинский университет, Уфа*

**Введение.** Последние годы ознаменовались появлением новых технологий, позволяющих при высокой результативности антиметастатического воздействия сохранять целостность печени, снижать риск осложнений без ущерба качества жизни и отдаленного прогноза.

**Материалы и методы.** На базе Башкирского республиканского клинического онкологического диспансера с сентября 2006 г. 5 пациентам с генерализованным колоректальным раком и раком молочной железы выполнена полная (3) и частичная (2) радиочастотная термоабляция метастазов в печень с использованием электрохирургического радиочастотного генератора RITA Medical Systems 1500X. Процедура выполнялась из отдельного мини-доступа по Кохеру под интраоперационным УЗИ-контролем. Размеры отдельных метастазов – от 8 до 12 см – и их локализация вблизи сосудистых структур не позволили у части больных выполнить их хирургическую обработку, поэтому в срок от 10 до 30 сут после операции пациентам была выполнена селективная катетеризация общей печеночной артерии и длительная регионарная внутриартериальная инфузия химиопрепарата: в случае колоректального рака – томудекс в дозе 4 мг, при опухолях молочной железы – доксорубин в дозе 50 мг. Процедура проводилась от 1 до 4 раз с интервалом 4 нед.

**Результаты.** Осложнений при выполнении абляции не было. В послеоперационном периоде летальных исходов, осложнений не отмечено, течение послеоперационного периода особенностей не имело. При селективной катетеризации общей печеночной артерии и регионарной внутриартериальной инфузии химиопрепарата также не наблюдалось осложнений, эметогенный эффект препаратов был не выражен, отмечалось кратковременное (3–5 сут) повышение уровня

трансаминаз, угнетения кроветворения не отмечалось. Все пациенты за время наблюдения живы, роста обработанных метастазов при УЗИ-контроле не отмечалось, наблюдалось сокращение размеров крупных метастатических узлов, не подвергнутых абляции, на 10–20 %.

**Выводы.** Радиочастотная термоабляция с использованием аппарата RITA – эффективный и безопасный метод лечения метастатического поражения печени, который целесообразно комбинировать с другими методами. При невозможности хирургической обработки метастатических очагов регионарная внутриартериальная инфузия химиопрепарата улучшает результаты лечения без выраженного системного токсического эффекта. Для достижения максимального эффекта необходим подбор препаратов в соответствии с гистоструктурой первичной опухоли.

*Б. Д. Климаков, А. А. Машалов, А. В. Иванов*  
**ПРИМЕНЕНИЕ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ  
 КРАСНОГО И ИНФРАКРАСНОГО  
 ДИАПАЗОНОВ В ЛЕЧЕНИИ ПОБОЧНЫХ  
 РЕАКЦИЙ И ОСЛОЖНЕНИЙ  
 КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ  
 ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ**

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

Конечные результаты химиолучевой терапии злокачественных опухолей во многом зависят от эффективности лечебных мероприятий, направленных на устранение побочных реакций и осложнений, возникающих в процессе ее проведения. Воздействуя на различные звенья гомеостаза, лазерное излучение используется как фактор предупреждения и коррекции побочных реакций. Появление оригинальных полупроводниковых технологий и производство на их основе новых типов лазерной техники расширяет терапевтический спектр использования лазеров в медицине и предполагает разработку эффективных методик их клинического применения, что и явилось предметом наших исследований.

В лечении лучевой патологии слизистых, покровных и подлежащих тканей использовалось лазерное излучение в диапазоне длин волн 630–1300 нм в непрерывном и импульсно-периодическом режимах. Курс лечения состоял из 10–15 сеансов ежедневного воздействия. Суммарная доза, набираемая за 1 сеанс, составляла от 12 Дж до 50 Дж.

Лазеротерапия 51 больного с диагнозом злокачественной опухоли урогенитальной сферы проведена с целью профилактики и лечения побочных лучевых реакций на протяжении всего курса лучевой терапии. Воздействие осуществлялось контактно, чрескожно в проекции толстой кишки, мочевого пузыря и предстательной железы. У большинства больных лазеротерапии предшествовали несколько курсов полихимиотерапии. Все больные получали также адекватную лекарственную терапию в случае возникновения побочных лучевых реакций. Наши наблюдения за динамикой кожных лучевых реакций не подтвердили существующего мнения о большей целесообразности использования лазерного воздействия по окончании очередного сеанса лучевой терапии, поскольку не было отмечено существенных различий в результатах лечения больных, лазерная терапия которым проводилась или только до начала, или только по окончании очередного сеанса лучевого лечения. В лечении кожных лучевых реакций у больных с диагнозом злокачественного новообразования молочной железы использовано несколько схем лазерного воздействия: у 64 лазерная терапия начиналась с появлением первых признаков кожных лучевых реакций, у 34 она проводилась с превентивной целью в течение всего курса лучевого лечения, а у 26 лазерное воздействие осуществлялось в 2 этапа (расщепленный курс) – в начале и конце курса лучевой терапии (по 5–8 ежедневных сеансов на каждом этапе). Лучшие результаты лечения по материалам клинической оценки достигнуты при использовании расщепленного курса лазерного воздействия.

Совершенствование методических приемов клинического использования лазерного излучения, обусловленное его потенциальными техническими возможностями, позволяет повысить эффективность лазерной терапии в комплексном лечении онкологических больных.

*В. А. Лазарева, Т. Г. Щербатюк, А. В. Масленникова,  
 К. В. Кулакова*  
**ДИНАМИКА ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО  
 СВЕЧЕНИЯ И ВЯЗКОСТИ ПЛАЗМЫ КРОВИ**

**У БОЛЬНЫХ С ОПУХОЛЯМИ  
 ОРОФАРИНГЕАЛЬНОЙ ЗОНЫ  
 В ПРОЦЕССЕ ХИМИОЛУЧЕВОГО ЛЕЧЕНИЯ**

*ГОУ ВПО НижГМА, Нижний Новгород*

*Областной онкологический диспансер, Нижний Новгород*

**Задачи исследования.** Изучение динамики хемилюминесцентного свечения и вязкости плазмы крови у больных с опухолями орофарингеальной зоны в процессе химиолучевого лечения.

**Материалы и методы.** В период с ноября 2005 г. по декабрь 2006 г. в исследование включены 37 пациентов с опухолями орофарингеальной зоны III–IV стадии в возрасте от 34 до 68 лет. Всем им проводилось химиолучевое лечение по следующей схеме: индукционный курс ПХТ (5-фторурацил+цисплатин), 3-недельный перерыв и химиолучевое лечение расщепленным курсом (курс ПХТ по той же схеме, затем дистанционная лучевая терапия в режиме обычного фракционирования до СОД 68–70 Гр за 2 этапа). Вязкость плазмы крови исследовалась на ультразвуковом микровязкозиметре (ИПФРАН, г. Н. Новгород), интенсивность хемилюминесцентного свечения плазмы – методом индуцированной хемилюминесценции (ХЛ) на приборе БХЛ-06 (г. Н. Новгород) в сроки: до лечения, в начале каждого из этапов химиолучевой терапии, в момент 1-х клинических проявлений побочных эффектов, в период разгара осложнений, в конце каждого из этапов химиолучевого лечения. Определяли Imax – максимальную интенсивность свечения исследуемой пробы, отражающую общую свободно-радикальную активность образца плазмы. Антиоксидантную активность пробы отражает S – светосумма ХЛ за определенное время. Вязкость образца ( $\eta$ ) измеряли в сантипуазах (сПз).

**Результаты.** Интенсивность ХЛ свечения плазмы до начала лечения составила  $1,74 \pm 0,22$  mV. В процессе лечения отмечался постепенный рост показателя свободно-радикальной активности, который в момент начала клинических проявлений осложнений химиолучевой терапии на 2-м этапе облучения составил  $2,01 \pm 0,20$  mV. При этом отмечалось снижение общей антиоксидантной активности на фоне регресса опухоли и развития местных и системных осложнений: показатель в начале лечения составил  $0,05 \pm 0,02$  mV и в процессе химиолучевого лечения снизился до  $0,04 \pm 0,01$  mV. Вязкость до лечения составила 1,89 сПз, в процессе лечения повысилась до 1,95 сПз. Установлена высокая корреляционная взаимосвязь между свободнорадикальной активностью (Imax) и вязкостью плазмы крови больных ( $r=0,70$ ).

**Вывод.** Таким образом, химиолучевое лечение оказывает существенное воздействие на состояние про- и антиоксидантной систем организма, что требует соответствующей коррекции.

*В. Н. Митин, В. Н. Кулаков, В. Ф. Хохлов, И. Н. Шейно,  
 Н. Г. Козловская, А. А. Портнов, К. Н. Зайцев, В. С. Швед,  
 А. М. Арнопольская*

**НЕЙТРОНОЗАХВАТНАЯ ТЕРАПИЯ  
 В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ  
 ОСТЕОСАРКОМЫ СОБАК**

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

*ГНЦ Институт биофизики, Москва*

*Московский инженерно-физический институт*

В клинике экспериментальной терапии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН в 1981 г. впервые в мире при выполнении сохранной операции для замещения дефекта кости использовали облученный вне организма гамма-квантами резецированный фрагмент – реплантат.

Основная цель операции заключалась в полном уничтожении в кости опухолевых клеток с сохранением анатомической структуры кости и ее способности к перестройке в организме. Несмотря на определенные успехи данного метода, основная трудность заключалась в замедленной перестройке облученного реплантата. Это, вероятно, происходит в связи с тем, что в случае обработки реплантата гамма-квантами лучевое воздействие тотально влияет на все клетки реплантируемого фрагмента, что приводит к значительной денатурации белков и снижению активности костных ферментов в нормальной ткани, замедляя период инкорпорации.

В поисках избирательного лучевого воздействия на костную опухоль мы предприняли попытки оценить эффективность нейтронозахватной терапии (НЗТ).

Первоначально мы провели борнейтронозахватную терапию (БНЗТ) резецированного фрагмента кости. Этот метод с использова-

нием потока медленных нейтронов обладает избирательным воздействием только на опухолевые клетки, предварительно избирательно накопившие бор, и щадящим действием на нормальную кость.

Мы провели БНЗТ у собаки с остеосаркомой крыла подвздошной кости ( $T_2G_2M_0 - Pb$ ).

В индукционном периоде была проведена химиолучевая терапия (гамма-терапия РОД 3 Гр, СОД 28 Гр, Цисплатин – общая доза  $150 \text{ мг/м}^2$ ) и накануне операции проводили трансфузию сепарированного и концентрированного аллогенного костного мозга от здорового донора в объеме 130 мл и количестве ядросодержащих клеток  $3,8 \times 10^9$ .

В день операции выполняли регионарную инфузию раствора борфенилаланина  $300 \text{ мг/кг}$ , который избирательно накапливается в опухолевой ткани. После резекции пораженного опухолью участка кости фрагмент кости, охлажденный парами жидкого азота в сосуде Дьюара, доставляли на ядерный реактор ИРТ МИФИ. Резецированную кость облучали пучком медленных нейтронов на горизонтальном канале реактора в течение 45 мин. Облученный фрагмент кости реимплантировали животному и фиксировали металлоконструкциями.

В адьювантном периоде проводили 3 курса химиотерапии (1 курс цисплатин  $70 \text{ мг/м}^2$  и 2 курса адриомидин  $30 \text{ мг/м}^2$ ).

После проведенного лечения спустя 24 ч животное опиралось на пораженную конечность. Через 2,5 мес в биопсийных пробах из реплантата опухолевых клеток гистологически не обнаружено. При рентгенологическом исследовании спустя 3 мес после операции отмечен процесс консолидации реплантата с материнской костью, без признаков патологического остеогенеза.

Продолжительность жизни пациента составила около 3 лет без признаков рецидива заболевания.

Нами были предприняты попытки провести НЗТ с использованием гадолиний-содержащего препарата Дипентаст. Технология гадолинийнейтронозахватной терапии (ГНЗТ) предусматривает интратуморальное введение препарата непосредственно перед сеансом облучения. При ГНЗТ облучению подвергали животное, а не резецированный фрагмент кости. Мы проводили ГНЗТ в качестве альтернативы хирургическому методу лечения остеосаркомы. Такой метод НЗТ обеспечивает максимальную концентрацию  $^{157}\text{Gd}$  внутри опухоли, что позволяет достигнуть максимального противоопухолевого эффекта. Вторичное излучение, возникающее в опухоли при ГНЗТ, оптимально для лечения опухолей костей.

В случаях ГНЗТ собакам с остеосаркомой мы наблюдали полную регрессию опухоли через 2 мес, что подтверждено гистологическим исследованием.

На основании проведенных наблюдений можно заключить, что НЗТ как с использованием бора, так и с гадолинием является весьма перспективной технологией избирательного воздействия на пораженную опухолью кость и может быть частью комплексного консервативного лечения остеосаркомы.

*В. Н. Митин, В. Н. Кулаков, В. Ф. Хохлов, И. Н. Шейно, Н. Г. Козловская, А. М. Арнопольская, А. А. Портнов*

### ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ НЕЙТРОНОЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ МЕЛАНОМЕ СЛИЗИСТОЙ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ У СОБАК

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

*ГНЦ Институт биофизики, Москва*

*Московский инженерно-физический институт*

**Введение.** Диагноз меланомы ставится в 30–40 % случаев при цитологическом и морфологическом анализе новообразований слизистой оболочки ротовой полости

При традиционных методах лечения данной патологии (хирургическое и дистанционная  $\gamma$ -терапия) возникает много осложнений, и, кроме того, в большинстве случаев данные методы не достаточно эффективны или не всегда доступны для выполнения.

**Цель исследования.** Определение эффективности нейтронозахватной терапии (НЗТ) (БНЗТ и гадолиний НЗТ) у собак со спонтанной меланомой слизистой ротовой полости. Для этого необходимо было воспроизвести реакцию нейтронного захвата у животных с данной патологией, а также оценить клинические результаты БНЗТ и ГНЗТ по сравнению с традиционными методами лечения.

**Материалы и методы.** В исследование включали животных с гистологически подтвержденным диагнозом меланомы слизистой оболочки ротовой полости. При цитологическом подтверждении наличия метастазов в регионарных лимфатических узлах выполняли лимфаденэктомию.

В качестве контроля использовали 2 группы животных: собак, подвергшихся дистанционной  $\gamma$ -терапии (7 животных), и собак с меланомой, обработанной только потоком нейтронов (6 животных).

Иммунотерапию проводили у всех групп животных (препарат – ронколейкин в дозе 12–15 тыс. Ед/кг).

Все животные находились в возрасте от 9 до 15 лет, то есть во 2-й половине жизни.

В нашем исследовании, мы проводили ГНЗТ с использованием  $^{157}\text{Gd}$  (препарат Дипентаст, который вводили интратуморально). БНЗТ проводили с использованием  $^{10}\text{B}$  (препарат – L-борфенилаланин, в/в).

Эффект облучения оценивали визуально, регистрируя изменение состояния опухоли и кожных покровов, а для определения воздействия облучения на кроветворение делали анализ форменных элементов периферической крови через 7 и 14 дней, а также через 1; 3 и 6 мес после облучения.

**Результаты.** В 1-й группе контроля через 1 мес после гамма-терапии у 50 % животных была достигнута стабилизация опухолевого роста. В 100 % случаев возникало рецидивирование в течение 1 мес, и продолжительность жизни составляла около 3 мес.

При облучении животных только пучком нейтронов полную регрессию опухоли мы наблюдали в 20 % случаев, но в 100 % случаев возникало рецидивирование через 1 мес после облучения.

При БНЗТ мы наблюдали полную регрессию опухоли в 78 % случаев, а рецидивирование возникало только в 14 % случаев животных с частичной регрессией опухоли. Средняя продолжительность жизни составляла 8 мес.

У животных, подвергшихся ГНЗТ, полная регрессия опухоли была достигнута в 44 % случаев, рецидивирование возникало в 46 % случаев через 3 мес. Продолжительность жизни составила около 6 мес (в 13 % случаев более 1 года).

**Выводы.** 1. Воспроизведена реакция нейтронного захвата при облучении пучком тепловых нейтронов с предварительным введением бор- и гадолинийсодержащих препаратов. 2. Определено, что метод НЗТ наиболее эффективен при лечении спонтанной меланомы, чем применяемые ранее традиционные методы лечения. 3. В сравнении с ГНЗТ БНЗТ показала наибольшую эффективность при лечении спонтанной меланомы слизистой ротовой полости у собак.

### О. М. Московцева, Т. Г. Щербатюк, О. В. Гордиевская ОСОБЕННОСТИ ИНФРАКРАСНЫХ СПЕКТРОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ЖИВОТНЫХ-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ СУКЦИНАТСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ

*ГБОУ ВПО НижГМА, Нижний Новгород*

**Задачи исследования.** 1) Изучить особенности инфракрасных (ИК) спектров плазмы крови крыс с лимфосаркомой Плисса; 2) выявить изменения ИК-спектров плазмы крови животных-опухоленосителей на фоне введения янтарной кислоты (ЯК), олигосахарида хитозана сукцината (ОхС) и олигосахарида хитозана сукцинат-аскорбата (ОхСа).

**Материалы и методы.** Исследования выполнены на 52 белых нелинейных крысах-самцах массой  $270 \pm 25 \text{ г}$  при использовании перививной опухоли лимфосаркома (ЛФС) Плисса, приобретенного в НИИ ЭдиТо РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (г. Москва). Исследуемые препараты вводили с помощью зонда в желудок в виде раствора концентрацией  $100 \text{ мг/кг}$  веса курсом 7 дней с 6-го дня после трансплантации опухоли. Результаты воздействий оценивались на следующий день после окончания манипуляций. Регистрацию ИК-спектров производили на спектрофотометре «Specord 75 IR», в диапазоне волновых чисел  $1170\text{--}1025 \text{ см}^{-1}$  (А. С. Гордеев, 1998). На полученной спектрограмме измеряли высоту пиков полос поглощения, соответствующих определенным волновым числам (1165; 1150; 1125;  $1070 \text{ см}^{-1}$ ) и рассчитывали средние значения высот пиков поглощения (интенсивность поглощения) для всех экспериментальных групп животных (единицы измерения – мм).

**Результаты.** Интенсивность поглощения ИК-излучения плазмой крови крыс со сроком роста ЛФС Плисса 14 дней на всех полосах поглощения достоверно ниже аналогичных показателей здоровых животных:  $1165 \text{ см}^{-1}$  – на 25 %;  $1150 \text{ см}^{-1}$  – на 9 %;  $1125 \text{ см}^{-1}$  – на 7 %;  $1070 \text{ см}^{-1}$  – на 12 % ( $p \leq 0,05$ ). Наибольшие изменения ИК-спектров плазмы крови животных всех опытных групп отмечены на полосах поглощения  $1165$  и  $1070 \text{ см}^{-1}$ , при этом максимальное снижение наблюдается на фоне введения комплекса ОхСА – на 35 % и 28 % соответственно ( $p \leq 0,05$ ).

Таким образом, ИК-спектры плазмы крови животных здоровых и с ЛФС Плисса имеют разные спектральные характеристики, а введение сукцинатсодержащих препаратов концентрацией  $100 \text{ мг/кг}$  веса курсом 7 дней с 6-го дня после трансплантации ЛФС Плисса приводит к еще большему снижению интенсивности поглощения ИК-излучения плазмой крови животных-опухоленосителей на полосах поглощения  $1165$  и  $1070 \text{ см}^{-1}$ . Наибольшие изменения ИК-спектров плазмы крови крыс с ЛФС Плисса наблюдается при введении олигосахарид хитозан сукцинат-аскорбата.

*Ф. Ф. Муфазалов, Д. Д. Сакаева, А. Ю. Штефан, Л. Д. Красноперова*

### ТЕНИПОЗИД ПРИ ХИМИОЛУЧЕВОМ ЛЕЧЕНИИ СУПРАТЕНТОРИАЛЬНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ГЛИОМ ГОЛОВНОГО МОЗГА

*Башкирский республиканский клинический онкологический диспансер, Уфа*

**Цель исследования.** Изучение возможности улучшения результатов комбинированного лечения супратенториальных злокачественных глиом за счет применения в программах послеоперационной лучевой терапии цитостатика тенипозид (вумона).

**Материалы и методы.** Исследование проведено на базе Башкирского РКОД в период с 2002 по 2006 гг. Были пролечены 102 первичных больных злокачественными глиомами, разделенные на 2 группы. Пациентам контрольной группы проводили дистанционную гамматерапию в стандартном режиме СОД  $60 \text{ Гр}$ , в основной группе облучение дополняли введением радиосенсибилизатора – полусинтетического производного подофиллотоксина – тенипозид. Препарат вводили в вену в 1–3-й и 20–22-й дни лучевой лечения в дозе  $30\text{--}50 \text{ мг/м}^2$ . Средний возраст пациентов основной группы составил  $42,9 \pm 11,15$  года, контрольной –  $43,3 \pm 11,45$  года. В основной группе мужчин было 26, женщин – 25, в контрольной: 24 и 27 соответственно. Распределение больных по морфологии опухоли было следующим: в основной группе глиобластом – 35, анапластических астроцитом – 8, олигоастроцитом – 7, олигодендроглиом – 1. В контрольной же группе аналогичные данные оказались следующими: глиобластом – 31, анапластических астроцитом – 11, олигоастроцитом – 6, олигодендроглиом – 3.

**Результаты.** Непосредственные результаты лечения в основной группе составили: полный ответ (ПО) – 7,8 %, частичный (ЧО) – 47,0 %, стабилизация процесса (СТ) наблюдалась у 43,2% пациентов, прогрессия (ПР) – в 2,0 % случаев. В контрольной группе аналогичные данные соответственно: ПО – 2,0 %, ЧО – 35,2 %, СТ – 51,0 %, ПР – 11,8 %. Достоверных различий в частоте и тяжести осложнений терапии между группами не выявлено.

Использование тенипозид не требовало назначения противорвотных препаратов, что при данной локализации опухоли чрезвычайно важно из-за риска развития скрытой внутричерепной гипертензии. Простота применения цитостатика и низкий профиль его токсичности способствуют возможности лечения в амбулаторных условиях.

**Выводы.** Предварительный анализ результатов свидетельствует о том, что химиолучевое лечение больных злокачественными глиомами с использованием тенипозид в качестве радиомодификатора эффективно, хорошо переносится.

### В. И. Соловьев, С. Н. Щаева, А. В. Борсуков ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЙ ЛИЗИС ПОД УЛЬТРАЗВУКОВЫМ КОНТРОЛЕМ В МАЛОИНВАЗИВНОМ ЛЕЧЕНИИ ОЧАГОВЫХ ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

*Областной онкологический клинический диспансер, Смоленск*

**Задачи исследования.** Оценить эффективность электрохимического лизиса (ЭХЛ) при воздействии на очаговое образование молочной железы в различных режимах, разработать индивидуальные режимы чрескожного ЭХЛ.

**Материалы и методы:** Проведены сеансы ЭХЛ на 56 послеоперационных препаратах, из них 36 фиброаденомы, 20 – узловая форма фиброзно-кистозной болезни (ФКБ). Кроме того, 51 пациентке были проведены сеансы предоперационного ЭХЛ под ультразвуковым контролем. Узловая форма ФКБ отмечена у 17, кисты – у 2, фиброаденомы – у 37 женщин. Для проведения лизиса использовался аппарат ECU-300 фирмы SORING (Германия). Режимы: сила тока  $50\text{--}90 \text{ мА}$ , расстояние между электродами  $10\text{--}15 \text{ мм}$ , экспозиция  $20\text{--}40 \text{ мин}$ . После сеансов ЭХЛ осуществляли гистологическую оценку особенностей тканевого патоморфоза в зависимости от полярности электродов и режима ЭХЛ. Использовали степени лучевого патоморфоза, разработанные под руководством Е. Ф. Лушника (1977).

**Результаты.** При изменении режима ЭХЛ размер зоны патоморфоза меняется. При низкой силе тока  $I$  до  $50 \text{ мА}$  и  $t$   $30\text{--}40 \text{ мин}$  зона некроза не превышает  $15 \text{ мм}$ , зона повреждения – до  $25 \text{ мм}$ . При средней силе тока ( $I$   $60\text{--}70 \text{ мА}$ ) зона некроза до  $20\text{--}25 \text{ мм}$  ( $t$   $30\text{--}40 \text{ мин}$ ), зона повреждения – до  $35 \text{ мм}$ . При  $I$   $90 \text{ мА}$  ( $t$   $30\text{--}40 \text{ мин}$ ) зона некроза определяется по формуле:

$$\emptyset \text{ некроза} = 0,82 \times t,$$

где  $\emptyset$  – диаметр некроза;  $t$  – время ЭХЛ в мин.,  $0,82$  – эмпирический коэффициент, вычисленный в результате экспериментально полученных данных на 46 больных с метастазами в печень при различных режимах работы (А. В. Борсуков, З. А. Лемешко, 2005).

**Выводы.** 1. ХЛ эффективен для лечения доброкачественных опухолей молочных желез преимущественно размерами до  $25 \text{ мм}$  в диаметре. 2. Оптимальными режимами для чрескожного ЭХЛ являются  $I$   $80 \text{ мА}$ ,  $t$  –  $30 \text{ мин}$ .

### С. Е. Ульяненко, С. Н. Корякин, В. М. Литяев, А. П. Баранов НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ РЕАЛИЗАЦИИ МЕТОДА СОЧЕТАННОЙ НЕЙТРОНОЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ

*ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск*

**Введение.** Нейтронная терапия с использованием нуклидов с высокими значениями сечения захвата тепловых нейтронов имеет 2 направления: а) самостоятельная нейтронозахватная терапия (НЗТ); б) так называемая «бустовая» терапия, т.е. комбинированная нейтроноударная терапия (НСТ) плюс НЗТ. Если по первому направлению необходимо иметь источники эпитепловых или тепловых нейтронов с плотностями потоков  $(0,1\text{--}1) \times 10^{10} \text{ н/см}^2\text{с}$ , то при бустовой терапии требования к их потокам значительно ниже. В этом случае используются тепловые и медленные нейтроны, образующиеся в самой облучаемой ткани при замедлении первичного пучка, и поглощенная доза за счет их захвата ядрами  $^{10}\text{В}$  является дополнительной по отношению к поглощенной дозе быстрых нейтронов. Поглощенная доза от нейтронозахватных событий, ее вклад в полную дозу и глубинное распределение зависят от энергетического спектра и размера поля первичного пучка нейтронов.

**Цель исследования.** Оценка вклада нейтронозахватных событий в суммарную поглощенную дозу при бустовой терапии расчетными методами и в дозиметрическом эксперименте в модельных системах.

**Материалы и методы.** Расчеты выполняли методом Монте-Карло. Раздельное определение поглощенных доз нейтронов и гамма-излучения проводили парой ионизационных камер с тканеквивалентными и магниевыми стенками и воздушным наполнением. Поток тепловых нейтронов измеряли детекторами из золота методом кадмиевой разности. Для определения числа нейтронозахватных событий на  $^{10}\text{В}$  использовали высокочувствительный дозиметр FBX с добавкой борной кислоты.

**Результаты.** Поглощенная доза быстрых нейтронов спектра деления снижается с глубиной (глубина 50 % уменьшения поверхностной дозы составляет  $5\text{--}6 \text{ см}$ ), тогда как доза гамма-излучения, поток тепловых нейтронов и число борнейтронозахватных событий (для стандартной концентрации  $^{10}\text{В}$ ,  $30 \text{ мкг/г}$ ) проявляют пологий максимум на глубине  $4\text{--}5 \text{ см}$ . Показано, что при бустовой НЗТ мощность дозы за счет продуктов реакции  $^{10}\text{В}(n, \alpha, \gamma)^7\text{Li}$  составляет в максимуме распределения около  $3 \text{ сГр/мин}$ , или примерно  $25\text{--}30 \%$  дозы быстрых нейтронов.

**Выводы.** При комбинированной терапии (НСТ+НЗТ) возможно увеличение очаговой дозы на 30 % за счет нейтронозахватных событий для опухолей, находящихся на глубине 4–8 см.

*С. Е. Ульяненко, М. Н. Кузнецова, С. Н. Корякин, А. П. Баранов*  
**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГАММА-НЕЙТРОННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ НА МОДЕЛЬНЫЕ ОПУХОЛИ ЖИВОТНЫХ ПРИ ИМПУЛЬСНЫХ РЕЖИМАХ ОБЛУЧЕНИЯ**

*ГУ Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск*

**Введение.** На современном этапе повышение эффективности лучевой терапии связывают с более глубоким изучением и внедрением новых видов и источников излучения, нестандартных сочетанных и комбинированных схем воздействия.

**Цель исследования.** Изучение радиобиологических характеристик и обоснование возможностей терапевтического использования нейтронного излучения импульсного генератора ИНГ-031 (разработка и производство НИИ автоматики г. Москвы).

**Материалы и методы.** Эксперименты проведены на беспородных крысах-самцах массой 200±20 г с модельной опухолью – саркомой М1. Эффективность нейтронного излучения сравнивали со стандартным гамма-излучением <sup>60</sup>Со (установка «Луч») по таким показателям, как динамика роста опухоли и лучевое повреждение кожи. Облучение саркомы крыс проводили в режиме сочетанного фракционированного воздействия ежедневно в течение 10 дней и разбивкой дневной дозы на 2 равные фракции с интервалом 1,5 ч между ними. СОД для 3 опытных групп животных была одинакова и с учетом теоретически рассчитанной исходной ОБЭ ~ 1,7 равнялась 20 Гр по гамма-излучению. Животные-опухоленосители контрольной группы не подвергались радиационному воздействию. Анализ эффективности облучения саркомы М1 крыс проводили с использованием следующих критериев: интегральный рост (St), время удвоения опухоли (T<sub>2</sub>), процент торможения роста (Т%).

**Результаты.** Непосредственные результаты эффективности изученных режимов облучения саркомы М1 представлены в таблице.

Группа	Режим, доза, Гр ежедневно	Основные показатели эффективности облучения		
		T <sub>2</sub> , сут	St, усл.ед.	T, % на 18-е сут
1	1,0 Гр γ + 0,6 Гр п	12	25,7	81,0
2	0,6 Гр п + 1,0 Гр γ	10	26,6	75,2
3	1,0 Гр γ + 1,0 Гр γ	9,5	30,1	71,1
4	контроль	3,5	50,4	–

Реакции кожи во всех опытных группах были незначительные (эритема, гематома и кратковременный мелкочешуйчатый сухой эпидермит у некоторых животных) и проходили в течение недели.

**Выводы.** Полученные данные показывают, что противоопухолевая эффективность исследованных режимов облучения саркомы различна. Отмечена тенденция более выраженной эффективности при γ-л-воздействии, экспериментально полученное ОБЭ нейтронов – 2,3–2,4.

*Фенг Ву*

**АБЛЯЦИЯ ВЫСОКОИНТЕНСИВНЫМ ФОКУСИРОВАННЫМ УЛЬТРАЗВУКОМ (HIFU) – НОВЫЙ МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ ЛОКАЛИЗОВАННЫХ КАРЦИНОМ**

*Центр клинической терапии опухолей, Чунцин, Китай  
 Оксфордский университет, Великобритания*

Абляция высокоинтенсивным фокусированным ультразвуком (HIFU) – новый способ лечения локальных опухолей. Идея применения HIFU в качестве неинвазивного метода локального разрушения патологической ткани насчитывает более 60 лет. Принятый гипертермический метод предполагает повышение температуры зоны опухоли от 37 °С до 42–45 °С и поддержание однородного распределения температуры в узком терапевтическом диапазоне в течение порядка 60 мин. В отличие от этого, при HIFU температура в зоне фокуса воздействия быстро повышается до температур в интервале 56–90 °С и удерживается на этом уровне примерно 1 с. Быстрая передача энер-

гии посредством HIFU вызывает резкий подъем температур, не ослабляемый охлаждением кровотоком. Таким образом обходится проблема неоднородного распределения температуры при гипертермии и снимается необходимость введения термодатчиков в обрабатываемую опухоль для контроля распределения температуры.

Развитие методов медицинской томографии в последние 2 десятилетия вызвало пробуждение интереса к HIFU в качестве метода терапии солидных опухолей. На каждом этапе терапии, включая планирование, выбор зоны действия, собственно терапию, мониторинг и контроль за реакцией опухоли, работа HIFU системы направляется двумерной ультразвуковой эхографией или магнитно-резонансной томографией. В последнее время было проведено множество клинических исследований применения HIFU для лечения солидных опухолей, включая такие локализации, как печень, брюшина, молочные железы, почки, кости, мягкие ткани и мозг. Цель этой работы – представить наш опыт использования HIFU-терапии, направляемой с помощью ультразвуковой эхографии, для лечения пациентов с раком печени в клиниках Китая и Великобритании.

В обеих клиниках использовалась одна и та же HIFU-терапевтическая система, направляемая с помощью ультразвуковой эхографии (Model-JC, Haifu Tech Co. Ltd., Чунцин, Китай). Гистопатологические исследования, проведенные в ходе клинических испытаний в Китае и Великобритании, показали полное разрушение как опухолевых клеток, так и микрососудистой системы опухолей, равно как и значительное снижение злокачественных характеристик пораженных опухолей, включая способность к пролиферации, инвазии, метастазированию и иммортализации. Терапевтический эффект контролировался как сразу после HIFU, так и при последующем долговременном наблюдении с использованием томографических методов, включая DSA, CT, MRI, ультразвуковую и гамма-томографию. Результаты показали положительный терапевтический отклик и выраженную регрессию леченых опухолей после HIFU-терапии.

5-летнее наблюдение пациентов с эпителиомой печени, раком молочной железы, остеосаркомой показало крайне редкую частоту осложнений у пациентов, прошедших HIFU-терапию. Таким образом, наши клинические испытания подтвердили, что HIFU-терапия – безопасный, эффективный метод лечения солидных опухолей. Тем не менее для надежного испытания эффективности метода необходимы дальнейшие международные испытания.

*С. А. Шевчик<sup>1</sup>, В. Г. Жуков<sup>1</sup>, И. Голованов<sup>1</sup>, К. Г. Линьков<sup>1</sup>, Б. Я. Коган<sup>2</sup>, В. Б. Лощенов<sup>1</sup>, Г. Н. Ворожцов<sup>2</sup>*

**СИСТЕМА АВТОМАТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ТЕМПЕРАТУРЫ В ТКАНИ ДЛЯ ГИПЕРТЕРМИИ**

*<sup>1</sup>ЦНИИ институт общей физики им. А. М. Прохорова РАН, Москва  
<sup>2</sup>ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва*

В настоящее время лазерная гипертермия рассматривается как перспективная методика лечения ряда патологий. Реализация оптимального режима гипертермии, связанного с точным поддержанием необходимой температуры в биоткани, ставит задачу создания комплексных систем контроля и лазерной дозиметрии. В связи с этим была разработана автоматическая система контроля температуры в биологической ткани для лазерной гипертермии. Система включает в себя персональный компьютер со специализированным программным обеспечением, лазер с длиной волны 800 нм, подключенный к компьютеру через стандартные коммуникационные порты, и тепловизионную камеру, регистрирующую распределение теплового поля на облучаемой поверхности в режиме реального времени. Полученные с помощью камеры термограммы анализируются программным обеспечением. На основании анализа динамики изменения температуры в зоне облучения производится расчет интенсивности лазерного излучения. Алгоритм управления позволяет не вводить предварительно таких параметров системы, как плотность мощности лазерного излучения и теплофизические параметры биоткани. Уточнение этих параметров производится системой в процессе облучения.

Система была протестирована на экспериментальных животных, в качестве которых использовались мыши BDF1 с перевитыми опухолями Эрлиха. В процессе эксперимента изучались переходные характеристики. Было установлено, что время переходного процесса, обеспечиваемое системой, составляет 120 с, точность поддержания температуры в патологическом очаге – 0,1°.

С. Н. Шаева

### МЕТОДИКА ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО ЛИЗИСА В ЛЕЧЕНИИ ОЧАГОВЫХ ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Областной онкологический клинический диспансер, Смоленск

**Задачи исследования.** Разработать индивидуальные режимы ЭХЛ; выделить инструментальные критерии эффективности лечения очаговых форм фиброзно-кистозной болезни (ФКБ) при чрескожном ЭХЛ.

**Материалы и методы.** Проведены сеансы предоперационного ЭХЛ 56 пациенткам с очаговыми доброкачественными заболеваниями молочной железы. Узловая форма ФКБ отмечена у 17 пациенток, кисты – у 2, фиброаденомы – у 37. Применялись моно- и биполярные электроды диаметром до 1,5 мм на аппарате ECU-300 (фирмы Soering, Германия). Режимы лизиса: сила тока 50–90 мА, расстояние между электродами 10–15 мм, экспозиция 20–40 мин. Оценка степени патоморфоза опухоли осуществлялась по Е. Ф. Лушникову (1977). Чрескожный предоперационный электрохимический лизис осуществлялся под ультразвуковым контролем в режимах В, РW, СW и доплерометрическим, с оценкой Vmax, Vmin, сосудов молочной железы и очага, Vmean, RI, PI. До начала лизиса доплерометрически уточняли локализацию сосудов в очаге и вокруг него на расстоянии 3–4 мм. Одновременно с лизисом проводили УЗ-мониторинг процесса ЭХЛ с оценкой правильного позиционирования электродов, выявления УЗ-эффекта эхопозитивного образования. Параллельно предпринималось доплерометрическое исследование артериальной кровотока в перифокальной зоне и по всему периметру капсулы очага. На следующие сутки пациенткам проводилась секторальная резекция молочной железы по общепринятой методике с последующим гистологическим исследованием препарата.

**Результаты.** Гистологическая оценка степени патоморфоза послеоперационных препаратов чрескожного ЭХЛ подтвердила ультразвуковые и доплерометрические критерии эффективности чрескожного лизиса. Патоморфоз III–IV степени наблюдался в 86 % случаев, когда при ультразвуковом контроле выявлялось эхопозитивное образование, захватывающее весь очаг и 3–4 мм вокруг него, с обязательным изменением формы доплеровской кривой (из артериальной – в хаотичную монотонную со сниженным до 50 % исходного псевдокровотока).

**Выводы.** 1. ЭХЛ эффективен для лечения фиброаденом молочных желез преимущественно размерами до 25 мм в диаметре с максимальной экспозицией 40 мин, силой тока 80 мА. 2. Появление УЗ-эффекта эхопозитивного образования, захватывающего весь очаг и 3–4 мм вокруг него является оценочным критерием эффективности ЭХЛ. 3. При исчезновении артериальной формы кровотока и снижении максимальной линейной скорости псевдокровотока в проекции сосуда до 0,13 и менее, можно достоверно считать, что лизис тканей в зоне исследования достиг степени асептического некроза.

С. Н. Шаева

### НАЧАЛЬНЫЙ ОПЫТ МАЛОИНВАЗИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ ОЧАГОВЫХ ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО ЛИЗИСА

Областной онкологический клинический диспансер, Смоленск

**Цель исследования.** Проблема лечения локализованных форм мастопатии чрезвычайно актуальна. В настоящее время сформировалось мнение о том, что мастопатия является предраковым состоянием, которое под влиянием определенных обстоятельств трансформируется в рак молочной железы. Суть электрохимического лизиса (ЭХЛ) заключается в том, что воздействие постоянного тока на опухоль, приводит к ее девитализации посредством электролиза. Имеются данные об использовании электрохимического лизиса в лечении метастазов печени, рака молочной железы, почки, однако не доказана эффективность ЭХЛ в лечении доброкачественных очаговых образований молочных желез.

**Материалы и методы.** Сеансы ЭХЛ проведены 12 пациенткам с очаговыми доброкачественными заболеваниями молочной железы в возрасте от 18 до 36 лет. У 7 (58 %) больных диагностирована фиброаденома молочной железы, у 3 (25 %) – узловая форма фиброзно-

кистозной болезни, у 2 (17 %) – киста молочной железы. Электрохимический лизис проводился с помощью аппарата ECU-300 фирмы SORING (Германия) под местной анестезией Sol. Lidocaini 2% 2 ml. Режимы: сила тока 50–80 мА, расстояние между электродами 10–15 мм, время воздействия 20–40 мин.

**Результаты.** Эффективность электрохимического лизиса оценивалась при помощи ультразвукового исследования и доплерометрии сосудов молочной железы и составила по нашим наблюдениям 90 %. Полная репарация наблюдалась при контрольном ультразвуковом исследовании через 1 мес, частичная – через 10–14 сут. Побочный эффект выявлен у 1 пациентки, у которой не произошло полного разрушения опухоли методом ЭХЛ.

**Выводы.** Полученные результаты свидетельствуют о высокой эффективности данного метода лечения очаговых доброкачественных заболеваний молочной железы. Данный метод достаточно прост и возможно его использование на уровне хирургических стационаров. Лечение очаговой доброкачественной патологии методом ЭХЛ не вызывает рубцовых изменений в месте проведения, т.е. достигается хороший косметический эффект, что особенно важно для пациенток молодого возраста. Таким образом, ЭХЛ очаговых доброкачественных заболеваний молочной железы – перспективный метод лечения, что требует дальнейших исследований.

Т. Г. Щербатюк<sup>1</sup>, М. В. Ширманова<sup>1</sup>,

А. М. Сергеев<sup>2</sup>,

И. В. Турчин<sup>2</sup>, С. С. Ларин<sup>3</sup>

### ОПТИЧЕСКАЯ КОГЕРЕНТНАЯ ТОМОГРАФИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОНКОЛОГИИ

<sup>1</sup>ГОУ ВПО НижГМА, Нижний Новгород

<sup>2</sup>Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород

<sup>3</sup>Институт биологии гена РАН, Москва

**Цель исследования.** Изучение возможностей метода оптической когерентной томографии (ОКТ) в оценке роста экспериментальной опухоли.

**Материалы и методы.** Эксперимент выполнен на 18 белых линейных мышках. Формирование модели опухоли проводилось путем подкожной трансплантации опухолевых клеток в количестве  $10^3$  и  $10^4$  штамма С-26. Наблюдение началось на 8-й день после прививки опухолевого штамма.

**Результаты.** Ежедневно в течение 4 дней проводилось ОКТ-наблюдение за ростом опухолей с помощью оптического когерентного томографа, созданного в ИПФ РАН. При обследовании одного животного получали 7–35 томограмм. Опухолевую ткань фиксировали в формалине. По стандартной схеме были получены гистологические препараты, которые окрашивались гематоксилином и эозином. Выявлено, что томограммы здоровой кожи характеризуются структурностью изображения: хорошо дифференцируются 3 слоя, которые соответствуют дерме, подкожно-жировой клетчатке (ПЖК) и подлежащей поперечно-полосатой мышечной ткани; скорость угасания томографического сигнала низкая. ОКТ-изображение опухоли имеет следующие особенности по сравнению с контролем: нарушение структурности изображения, частичная потеря границы между дермой и ПЖК, потеря границы между ПЖК и мышечной тканью; скорость угасания томографического сигнала от умеренной до высокой. Томограммы, фиксированные с переходных участков между здоровой кожей и опухолью, сочетают признаки как интактной, так и опухолевой ткани. Характерным для них является «обрыв границы» между слоями, соответствующими ПЖК и мышечной ткани. Важно, что визуальная граница опухоли совпадает с ее томографической границей. Выявлено, что оптические образы опухолей одного срока роста при различной исходной концентрации опухолевых клеток отличаются, а именно: нарушение структурности изображения и скорость затухания сигнала при  $10^3$  клеток меньше, чем при  $10^4$ . При визуальном отсутствии опухоли на 8-й день после прививки опухолевых клеток томографически обнаружено нарушение организации слоистой структуры в области инокуляции, на 9-й день – нарушение организации слоистой структуры с потерей границы между подкожно-жировой клетчаткой и мышечной тканью. На 10-й день после прививки опухоль стала визуально различимой, и на томограмме присутствовали все признаки, характерные для злокачественного новообразования. Это позволяет предположить, что с помощью ОКТ можно диагностировать ранние стадии роста опухоли.

# РАЗНОЕ

В. Н. Анисимов<sup>1</sup>, Н. А. Плотникова<sup>2</sup>, Г. М. Веснушкин<sup>2</sup>  
**МЕЛАТОНИН УГНЕТАЕТ КАНЦЕРОГЕНЕЗ  
 КОЖИ, ИНДУЦИРОВАННЫЙ  
 БЕНЗ(А)ПИРЕНОМ У МЫШЕЙ**

<sup>1</sup>НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова Росздрава, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Мордовский государственный университет

им. Н. П. Огарева, Саранск

**Цель исследования.** Изучить влияние мелатонина при введении в разных дозах на канцерогенез кожи у мышей в эксперименте.

**Материалы и методы.** 130 самкам белых SHR/и мышей индуцировали опухоли кожи нанесением 0,05%-ного раствора бенз(а)пирена на выбранный участок кожи спинки, начиная с 3-месячного возраста на протяжении 24 нед. Часть животных получали мелатонин ежедневно в ночные часы с питьевой водой в дозах 20 и 2 мг/л. По окончании эксперимента производился подсчет общего числа опухолей кожи, измерялся их размер, изучалась гистологическая структура опухолей.

**Результаты.** Частота индукции опухолей кожи у мышей в группе контроля составила 69,4 %. Под влиянием мелатонина данный показатель уменьшился, составив 34,3 % и 43,6 % при введении препарата в дозах 20 и 2 мг/л соответственно. Среднее число опухолей на 1 животное в контроле составило  $3 \pm 0,294$ . При коррекции мелатонином в дозах 20 и 2 мг/л множественность опухолей уменьшилась, составив соответственно  $2,083 \pm 0,557$  ( $p > 0,05$ ) и  $2,177 \pm 0,231$  ( $p < 0,05$ ). Средний размер опухолей в группе контроля составил  $5,107 \pm 0,509$  мм. Уменьшение среднего размера опухолей оказалось достоверно в обоих случаях, составив  $2,462 \pm 0,243$  мм ( $p < 0,001$ ) и  $3,676 \pm 0,366$  мм ( $p < 0,05$ ). При гистологическом исследовании в 92 % случаев в группе контроля был диагностирован плоскоклеточный ороговевающий рак. В 21,7 % случаев выявлено метастатическое поражение легких. Частота развития рака составила 83,3 % в группе животных, получавших мелатонин в дозе 20 мг/л и 76,5 % при введении мелатонина в малой дозе. Поражение легких составило соответственно 16,7 % и 11,8 %.

**Выводы.** Мелатонин угнетает канцерогенез кожи у мышей в эксперименте, что проявляется в уменьшении общей частоты развития опухолей и частоты злокачественных опухолей, множественности и размеров опухолей, а также в антиметастатическом действии. Дозовые влияния мелатонина на перечисленные параметры неоднозначны. Однако анализ воздействия на совокупность изучаемых морфологических критериев позволяет сделать заключение о более эффективном антиканцерогенном действии малой дозы мелатонина.

Г. Н. Апрышко

**СИСТЕМА PASS И ПОИСК НОВЫХ  
 ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЛЕКАРСТВ**

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

**Введение.** Один из современных подходов к поиску новых противоопухолевых лекарств, позволяющий сократить число веществ, изучаемых в биологических экспериментах, – внедрение информационных технологий, в том числе компьютерных систем прогнозирования биологической активности вещества по его химической структуре.

**Задача исследования.** Оценка целесообразности использования отечественной компьютерной системы PASS (разработка Института биомедицинской химии РАМН) для прогноза биологической активности веществ по их структуре на этапе доэкспериментального скрининга потенциальных противоопухолевых веществ.

**Материалы и методы.** Структурные формулы и данные по противоопухолевой активности *in vivo*, содержащиеся в электронной Базе данных формата ISISBase НИИ ЭДнГО ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. Версия 1.917 системы PASS, содержащая в базе знаний 60722 химические структуры и прогнозирующая 2497 видов биологической активности со средней ошибкой 8,472 %.

**Результаты.** Наличие и отсутствие у веществ экспериментально показанной противоопухолевой активности правильно прогнозируются примерно в одинаковом числе случаев (65 % и 67,5 % соответ-

ственно). По результатам положительного прогноза первичному экспериментальному тестированию на противоопухолевую активность подлежат 46 % всех предлагаемых веществ. Предварительный компьютерный прогноз противоопухолевой активности позволяет повысить количество выявляемых активных веществ с 42,7 % до 60 % и снизить количество выявляемых неактивных веществ с 57,3 % до 18,5 % от всех веществ, предлагаемых для тестирования, то есть экспериментальное изучение веществ, предварительно отобранных по результатам компьютерного прогноза, позволяет снизить непроизводительные затраты на экспериментальное изучение истинно неактивных веществ примерно в 3 раза по сравнению с экспериментальным изучением всех предлагаемых для изучения веществ без предварительного компьютерного прогноза активности. Только 15 % истинно активных противоопухолевых веществ потеряются как потенциальные лекарства в результате их исключения из экспериментального изучения из-за получения при прогнозе 15 % ложноотрицательных результатов.

**Выводы.** Систему PASS целесообразно использовать для доэкспериментального скрининга на противоопухолевую активность в случае предложения для изучения большого количества веществ или при виртуальном скрининге новых химических структур до их синтеза.

Д. Ю. Блохин<sup>1</sup>, П. К. Иванов<sup>1</sup>, Е. Б. Мечетнер<sup>2</sup>  
**АДРЕСНАЯ ХИМИОТЕРАПИЯ  
 ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ**

<sup>1</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

<sup>2</sup>Oncotech, 15501, Red Hill Ave, Tustin, CA

Лекарственная устойчивость опухолей и побочные токсические реакции нормальных тканей на проводимое лечение ограничивают применение противоопухолевой химиотерапии в онкологической клинике. Поиск лекарственных средств новых поколений с большей избирательностью действия остается актуальной задачей на протяжении всего периода существования химиотерапии как метода лечения онкологических заболеваний, и нет оснований рассчитывать, что революционный прорыв в этой области будет совершен в ближайшем будущем.

Вместе с тем появилась возможность максимально эффективного использования имеющегося арсенала лекарственных средств для выбора индивидуальных схем лечения, исключая из лекарственных комбинаций заведомо не эффективные для данного случая компоненты. Идея индивидуального (адресного) подхода к лечению на основе определения спектра лекарственной чувствительности опухолевых клеток *in vitro* на практике оказалась мало эффективной, поскольку опухоль, состоящая из чувствительных к лекарственным препаратам клеток, в условиях организма может проявлять выраженную рефрактерность, обусловленную особенностями фармакокинетики, биодоступности, скорости окислительного катаболизма и другими причинами. Данная закономерность однонаправлена, и обратная ситуация не должна иметь места: опухоль, состоящая из резистентных к определенным лекарственным препаратам клеток, в условиях организма не может быть чувствительной к ним ни при каких условиях. Следовательно, задача индивидуального подхода должна быть сформулирована в обратном направлении: опухолевые клетки пациентов следует тестировать на наличие у них лекарственной резистентности и исключать из лечебных схем заведомо не эффективные препараты.

Известно, что лекарственная устойчивость опухолевых клеток может быть обусловлена одной из одновременно нескольких различных причин или сочетанием их: активация обратного транспорта лекарственных молекул из клетки во внешнюю среду (система ABC-транспортеров), их внутриклеточное секвестрирование (LRP/MVP), окислительный катаболизм (цитохромы P450) и инактивация (глутатион-S-трансферазы), блокировка формирования и/или трансдукции сигнала программированной клеточной гибели. Однако с практической точки зрения важен не молекулярный механизм становления фенотипа лекарственной резистентности, а суммарный результат:

сохранение опухолевыми клетками жизнеспособности в среде определенного цитотоксина.

Специалисты биотехнологической компании Oncotech (Tustin, CA) довели тест определения лекарственной резистентности опухолевых клеток *in vitro* до стандартизованных процедур, распространив его на клиническую лабораторную практику (сертификаты CLIA) стран североамериканского континента, Западной Европы и Юго-Восточной Азии: операционный опухолевый материал в транспортной среде курьерской службой доставляется в калифорнийскую лабораторию в течение 3–3 сут после получения, подвергается механическому измельчению и ферментативному диспергированию до отдельных клеток, которые высеваются в полужидкий агар в среду, содержащую один из противоопухолевых препаратов. Через 3 сут культивирования в среду добавляется меченный тритием тимидин, еще через 48 ч клетки лизируют, меченую ДНК собирают харвестером на фибергласовые фильтры и определяют радиоактивность образцов против положительного и отрицательного контролей. По результатам теста исходный образец относят к одной из трех групп: с низким, средним или экстремальным уровнем лекарственной резистентности. Точность прогноза резистентности к лекарственному лечению превышает 99 %.

*Л. З. Болиева<sup>1</sup>, Ф. К. Джиоев<sup>1</sup>, Л. И. Карасева<sup>2</sup>, А. В. Сергеев<sup>2</sup>*  
**ВЛИЯНИЕ МИКРОНУТРИЕНТОВ  
 С АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТЬЮ  
 НА ВОЗНИКНОВЕНИЕ САРКОМ,  
 ИНДУЦИРОВАННЫХ У КРЫС  
 7,12-ДИМЕТИЛБЕНЗАНТРАЦЕНОМ**

<sup>1</sup>Северо-Осетинская государственная медицинская академия, Владикавказ

<sup>2</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

**Введение.** Микронутриенты с антиоксидантной активностью являются в настоящее время одними из наиболее перспективных средств химиопрофилактики злокачественных новообразований. Интерес к веществам данной группы обусловлен той важной ролью, которую играет антиоксидантная система организма в процессе канцерогенеза. По современным представлениям ее несостоятельность способствует инициации цепи событий, приводящих к злокачественной трансформации. В многочисленных экспериментальных исследованиях показано антиканцерогенное действие витаминов Е, С, бета-картина, селена при индукции опухолей разной органной локализации. Однако остается еще немало нерешенных вопросов, наиболее важным из которых является определение спектра антиканцерогенной активности как отдельных микронутриентов, так и их комбинаций.

**Цель исследования.** Изучение влияния бета-каротина, Каскатола и селенита натрия на возникновение подкожных сарком, индуцированных у крыс 7, 12-диметилбензантраценом (ДМБА).

**Материалы и методы.** Эксперимент проведен на крысах-самцах линии Вистар. Подкожные саркомы индуцировали подкожным введением ДМБА в дозе 2 мг на крысу. Крысы опытных групп получали с кормом в течение всего эксперимента следующие средства: бета-каротин по 25 мг/кг массы тела; Каскатол (витаминный комплекс, содержащий бета-каротин, витамины Е, С) по 4 драже/кг массы тела или Каскатол в комбинации с селенитом натрия по 2 драже/кг массы тела и по 2 мг/л воды соответственно. Антиканцерогенную активность оценивали по изменению числа животных с опухолями и среднего латентного периода возникновения новообразований.

**Результаты.** В условиях проведенных экспериментов нами не было выявлено влияния исследуемых средств на частоту возникновения новообразований: в обеих сериях экспериментов саркомы развились у 100 % животных как контрольных, так и опытных групп. Антиканцерогенная активность микронутриентов проявлялась в их влиянии на средний латентный период возникновения опухолей. Бета-каротин отодвигал сроки развития опухолей в опытной группе на 36,8 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем, Каскатол – на 36,5 % ( $p < 0,05$ ), Каскатол с селенитом натрия на 49,3 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой. Было также отмечено статистически достоверное торможение темпов роста опухолей и повышение выживаемости животных под воздействием синтетического бета-каротина, Каскатола и комбинации Каскатола с селеном по сравнению с животными контрольных групп.

**Выводы.** Полученные данные позволяют говорить о том, что синтетический бета-каротин, Каскатол и комплекс Каскатола с селенитом натрия оказывают некоторое ингибирующее влияние на канцерогенез, индуцируемый ДМБА, наиболее выраженное при комбинированном применении микронутриентов. Все средства проявляли антипромоторную активность, что свидетельствует об их способности ингибировать канцерогенез независимо от этиологического фактора. Следует подчеркнуть, что в данном случае защитное действие препаратов проявилось в весьма жестких условиях опыта, так как нами применялась высокая доза мощного канцерогенного вещества, которая обычно вызывает опухоли у 100 % животных в короткие сроки.

*Т. М. Борисова, Т. Г. Шербатюк*  
**ИЗМЕНЕНИЯ ПРОЦЕССОВ  
 СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ  
 В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЦИРКАДИАНЫХ  
 РИТМОВ**

Государственная медицинская академия, Нижний Новгород

**Введение.** Известно, что физиологические и биохимические показатели организма не являются статичными, а постоянно изменяются с определенным ритмом. Интенсивность процессов свободнорадикального окисления в организме также подвержена ритмическим изменениям. Многие патологические процессы сопровождаются нарушениями временной структуры как пораженного органа, так и других органов и систем и большинства физиологических функций (Т. П. Рябых, В. А. Горбунова, Я. В. Добрынин, 2003). Развитие новообразования сопровождается увеличением количества свободных радикалов и снижением активности антиоксидантной системы, что, как правило, приводит к активации свободнорадикального окисления в организме (Пынзарь, Пальмина, 1998). Изучение закономерностей суточных колебаний активности антиоксидантной системы организма при опухолевом росте необходимо для совершенствования способов лечения онкологических заболеваний.

**Цель исследования.** Установить особенности циркадианного ритма свободнорадикальной и антиоксидантной активности здорового и пораженного злокачественной опухолью организма.

**Материалы и методы.** Эксперименты выполнены на 48 белых нелинейных крысах, самцах массой 180±20 г. Модель неоплазии создавали путем подкожной трансплантации клеток штамма лимфосаркомы Плисса. Интактные животные были разделены на 6 групп по 3 крысы, животные с опухолью – на 6 групп по 5 крыс. Через 12 дней после перевивки экспериментальной опухоли крыс декапитировали каждые 4 ч в течение суток. Свободнорадикальную и антиоксидантную активность плазмы крови косвенно оценивали методом индуцированной хемилуминесценции на биохемилуминометре БХЛ-06М (Н. Новгород).

**Результаты.** В плазме крови крыс-опухоленосителей выявлено увеличение на 16 % свободнорадикальной и снижение на 17 % антиоксидантной активности. Для животных с экспериментальной опухолью характерно изменение суточного ритма интенсивности свободнорадикальных процессов (смещение батифазы) и общей антиоксидантной активности (смещение акро- и батифазы на 4 ч, уменьшение амплитуды в 3 раза).

**Выводы.** Таким образом, в плазме крови животных-опухоленосителей наблюдается смещение баланса про- и антиоксидантов в сторону увеличения окислительных процессов и дестабилизация циркадианной ритмики антиоксидантной системы организма, нормальное функционирование которой поддерживает процесс канцерогенеза.

*О. Л. Верстакова, М. Г. Гринин, И. А. Проскура, А. И. Суханова, Д. З. Купчан*  
**АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ МЕТОДИЧЕСКОЙ  
 БАЗЫ ПРОВЕДЕНИЯ КЛИНИЧЕСКИХ  
 ИССЛЕДОВАНИЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ  
 СРЕДСТВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В ОНКОЛОГИИ**

Институт доклинической и клинической экспертизы лекарственных средств ФГУ НЦЭСМП Росздравнадзора

Задача исследования – оценка состояния методической базы в области клинических исследований (КИ) лекарственных средств (ЛС) для онкологии в РФ. Использован метод научного анализа норматив-

но-правовых (н-п) и методических документов. В настоящее время для экспертизы КИ ЛС имеются следующие н-п акты: Фед. закон от 22.06.98 № 86-ФЗ «О лекарственных средствах»; «Основы законодательства РФ об охране здоровья граждан» от 22.07.93 № 5487-1; Фед. закон от 23.08.96 № 127-ФЗ «О науке и гос. научно-технической политике»; Нац. стандарт РФ ГОСТ Р 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика» (Приказ Фед. агентства по техническому регулированию и метрологии от 27.09.05 № 232-ст.); Правила клинической практики в РФ (Приказ МЗ РФ от 19.06.2003 №266); Положение об ускоренной процедуре государственной регистрации лекарственных средств (Приказ МЗ РФ от 20.11.2002 № 352); Административный регламент Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития по исполнению государственной функции по организации проведения экспертизы качества, эффективности, безопасности лекарственных средств (Приказ МЗ и СР РФ от 30.10.2006 № 734); Административный регламент Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития по исполнению государственной функции по государственной регистрации лекарственных средств (Приказ МЗ и СР РФ от 30.10.2006 № 736). Организация и контроль качества КИ ЛС в РФ регулируется в настоящее время Нац. стандартом Российской Федерации ГОСТ Р 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика». Методическую базу составляют инструкции (И) Руководства по проведению КИ новых лекарственных средств (2005), регламентирующие КИ некоторых фармако-терапевтических групп ЛС. Указанные И, как правило, содержат стандартные разделы: введение, цели и задачи клинического исследования, характеристику исследования (дизайн), критерии включения и исключения, оценку эффективности и безопасности, анализ полученных данных. Каждый методический документ описывает особенности КИ конкретной группы препаратов. Исключение составляют И по проведению КИ онкологических препаратов, подготовка которых проводится в настоящее время. Развитие методической базы практической медицины связано с выявлением молекулярных причин болезней, возможным благодаря современным технологиям визуализации патологических процессов с применением диагностических лекарственных препаратов и неинвазивных, специфичных, высокоразрешающих *in vivo* технологий. Примером современной молекулярной диагностики является рецепторная сцинтиграфия, позволяющая получать изображения за счет взаимодействия рецептора с соответствующим гормоном или антителом, меченным радионуклидом (РН). Достижение современной ядерной медицины – метод молекулярной визуализации (ММВ) – имеет важное значение для ранней диагностики злокачественных новообразований. Существенное улучшение диагностики нейроэндокринных новообразований и их метастазов получено с использованием в качестве трэйсеров веществ белковой природы (гормонов, их аналогов, антител). За рубежом для РН-диагностики применяются препараты *OstreoScan* (фирмы *Malinkrodt*), и *NeoSpect* (фирмы *Amersham Health*), а для РН-терапии – препарат *Зевалин* (фирмы *Schering AG*). В РФ для диагностики зарегистрирован 1 зарубежный препарат «*NeoSpect*», в процессе регистрации находится 1 отечественный – *Октреотид*, <sup>111</sup>In (фирмы *Фарм-Синтез*), поэтому целесообразно создание новых отечественных препаратов для ММВ, а также совершенствование диагностических средств для радиофармацевтики и методологии КИ. Таким образом, в соответствии с действующим законодательством РФ, принципами, стандартами и методическими подходами следует развить разработку ЛС, создавать новые методические документы для КИ и клинической экспертизы новых эффективных и безопасных ЛС в онкологии.

Д.С. Воробьев<sup>1</sup>, И.Б. Семенова<sup>1</sup>, И.М. Лученко,<sup>2</sup>  
Ф.В. Доненко<sup>2</sup>, П.Г. Свешиников<sup>1</sup>

### ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ БЕЛКА ТЕПЛООВОГО ШОКА

<sup>1</sup>ГУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова РАМН, Москва  
<sup>2</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

**Введение.** В настоящее время выявлена способность белка теплового шока (БТШ) активировать эффекторные механизмы врожденного иммунитета. В частности, белки теплового шока взаимодействуют

с рецепторами CD40 и CD91 антигенпредставляющих клеток и рецептором CD94 естественных киллеров. Несмотря на многочисленные исследования последних лет, посвященных БТШ, его роль в защите против инфекции остается малоизученной, а в отношении противоопухолевого действия данные литературы противоречивы.

**Цель исследования.** Оценить противоопухолевую и антибактериальную активность БТШ.

**Материалы и методы.** Противоопухолевую активность изучали на мышах СВА<sub>57</sub>BL/6. Им 3-кратно внутрибрюшинно вводили БТШ (за 24 ч до перевивки опухоли (меланомы В16) и через 24 ч и 72 ч после нее) в дозах 100 мкг и 400 мкг. Антиинфекционную активность изучали на белых беспородных мышах, которым однократно внутрибрюшинно вводили БТШ в дозах 1; 10; 100 и 400 мкг. Через 24 ч их заражали абсолютными летальными дозами *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*.

**Результаты.** В опытах на мышах при введении БТШ в дозе 100 мкг на 15-е сут после перевивки опухоли было получено торможение роста опухоли (ТРО) по сравнению с контролем на 28 %. В дозе 400 мкг БТШ не влияли на рост опухоли. При заражении *S. typhimurium* в дозе 40 LD<sub>50</sub> на 8-е сут в опыте выжило 40 % мышей при 100%-ной гибели в контрольной группе (p<0,05). В экспериментах с заражением *K. pneumoniae* и *S. pneumoniae* была получена неспецифическая резистентность у мышей. Число выживших мышей в обоих опытах на 10-е сут составило по 40 % против 20 и 10 % в контрольной группе соответственно. Выявлено, что при заражении внутриклеточными бактериальными возбудителями (*S. typhimurium*) эффективной оказалась доза БТШ 400мкг, а для внеклеточных бактерий (*K. pneumoniae* и *S. pneumoniae*) – 10 мкг и 100мкг соответственно.

**Выводы.** Таким образом, на основании полученных результатов можно предполагать о защитной роли БТШ в отношении ряда бактериальных инфекций за счет активации механизмов врожденного иммунитета.

### С. В. Городнов, А. В. Жинов ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОКОАГУЛЯЦИИ И ОКСИГЕНАЦИИ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ОЗОНОТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ.

Областной клинический онкологический диспансер, Ульяновск

**Цель исследования.** Улучшение непосредственных результатов лечения больных колоректальным раком.

**Задачи исследования.** Оценить изменения гемостаза и оксигенации шовной полосы при использовании метода интрасосудистой озонотерапии у больных колоректальным раком. Изучить непосредственные результаты лечения.

**Материалы и методы.** В основу работы положены данные лечения 122 больных колоректальным раком за период с 2003 по 2005 гг., которым выполнялись операции с наложением анастомоза. Больные были разделены на 2 группы. 1-я – 62 больных, которым выполнено оперативное вмешательство без введения озонированных растворов (контрольная), 2-я группа включала 60 больных, которым интраоперационно вводились озонированные растворы. Лечение проводилось больным однородных групп по возрасту, полу, сопутствующей патологии, распространенности опухолевого процесса и видам оперативного вмешательства. У больных в исследуемых группах сравнивались коагулограммы в предоперационном и раннем послеоперационном периодах. Интраоперационно проводилось измерение насыщенности кислорода в шовной полосе анастомозируемых участков кишечника. Проводился анализ осложнений в 2 группах.

**Результаты.** Оценку нарушений системы гемостаза проводили по данным коагулограммы. Протромбиновый индекс в группе больных до операции, которым планировалось введение озонированных растворов, составил 89,1±1,91, он существенно не менялся после введения озонированных растворов и составил 88,6±1,88. У контрольной группы больных до операции протромбиновый индекс составил 89,2±1,12, а в раннем послеоперационном периоде – 87,2±1,12 (p>0,05). Время рекальцификации оставалось в пределах нормы (N – 60–120 с). Наибольшим изменениям был подвержен показатель фибриногена. Так в контрольной группе показатель количество фибриногена увеличился после операции с 459,3±31,3 до 567,9±30,7

( $p=0,0004$ ). После введения озонированных растворов показатель фибриногена снижался с  $501,1 \pm 38,1$  до  $438,1 \pm 28,6$  ( $p=0,01$ ). Тромботест в группе с озонированием составили  $4,9 \pm 0,17$ , а в контрольной –  $4,7 \pm 0,15$ . В последней группе наблюдалось увеличение показателя до  $5,1 \pm 0,13$  ( $p=0,001$ ). В группе больных, которым проводилось озонирование, тромботест достоверно снижался до  $4,6 \pm 0,16$  ( $p=0,02$ ). Показатель оксигенации шовной полосы при ведении озонированных растворов увеличивался с  $83,7 \pm 2,4$  до  $92,9 \pm 1,8$  ( $p < 0,05$ ). В контрольной группе осложнения возникли у 15 (24,2 %) человек, во 2-й – у 8 (13,3 %). Наиболее часто встречались гнойные осложнения в виде нагноения ран с равномерным распределением в обеих группах. Осложнения чаще возникали в контрольной группе. У больных в 1-й группе чаще развивались несостоятельность и некроз низведенной кишки. Послеоперационная летальность в контрольной группе составила 3,2 %. Во 2-й группе летальных исходов не было.

**Выводы.** При озонировании наблюдаются изменения в коагулограмме пациентов, выражающиеся, в первую очередь, в снижении количества фибриногена и нормализации тромботеста. После введения озонированных растворов увеличивается оксигенация анастомозируемых участков кишечника. Озонотерапия наряду с уменьшением общего количества осложнений уменьшает риск угрожаемых жизни состояний и приводит к снижению послеоперационной летальности.

*О. С. Жукова, И. Ж. Шубина, Г. К. Герасимова, Л. В. Фетисова, А. М. Карамзин, М. В. Киселевский*  
**ИЗБИРАТЕЛЬНАЯ ЦИТОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИМФОКИН-АКТИВИРОВАННЫХ КИЛЛЕРОВ**

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

**Цель исследования.** Сравнительное изучение цитотоксической активности клеток-эффекторов в отношении опухолевых и нормальных нетрансформированных клеток.

**Материалы и методы.** Линии опухолевых клеток человека: немелкоклеточный рак легкого А549, карцинома яичников человека линии SCOV3, рак молочной железы человека MCF7 и эритробластный лейкоз человека K562; линия нормальных клеток легкого эмбриона теляка (ЛЕК) и первичная культура фибробластов человека. Мононуклеарные лейкоциты крови (МНК) выделены из периферической крови здоровых доноров. ЛАК получали из МНК путем активации интерлейкином-2. Цитотоксическую активность лимфоцитов определяли на линиях опухолевых клеток человека с применением МТТ-теста. МНК и ЛАК смешивали в различных соотношениях клетки-мишени/эффекторы. Экспрессию поверхностных маркеров клеток-эффекторов определяли при помощи моноклональных антител против соответствующих антигенов. Результаты учитывали методом проточной цитофлюорометрии на проточном цитометре FACScan.

**Результаты.** Показано, что ЛАК экспрессируют активационные молекулы (CD38), молекулы главного комплекса гистосовместимости II класса (HLA-DR), антигены натуральных киллеров (CD16, CD 56, CD 57) и молекулы адгезии (CD 58).

Киллерная способность ЛАК значительно превышает цитотоксическую активность МНК. Наиболее высокий уровень цитотоксичности и МНК, и ЛАК проявляется по отношению к клеткам линий К 562 и А 549. МНК и ЛАК в испытанных соотношениях практически не оказывают цитотоксического действия на нормальные фибробласты человека и эмбриональные клетки линии ЛЭК.

**Выводы.** МНК и ЛАК избирательно лизируют опухолевые клетки различного гистогенеза и не оказывают цитолитического действия на нормальные клетки человека и эмбриональные клетки животных.

*И. А. Зайцева, С. И. Яровая, К. Г. Пузаков, Ю. Н. Потапов*  
**ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА БИОВЕСТИН ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ХИМИОТЕРАПИИ БОЛЬНЫМ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ**

*Областной клинический онкологический диспансер, Воронеж*

**Задачи исследования.** Изучение эффективности препарата Биовестин для профилактики и лечения побочных явлений противоопу-

холевой химиотерапии по схемам, включающим постоянную круглосуточную инфузию цитостатика фторурацил.

**Материалы и методы.** Препарат применяли 26 больным злокачественными опухолями головы и шеи, желудка, толстой кишки, у которых во время или после 1-го курса химиотерапии развились диспепсические расстройства. Пациенты получали курсы паллиативной и адьювантной химиотерапии по схемам PF, TPF, FOLFOX, включающим 2–5-сут постоянную инфузию фторурацила. После развития диспепсического синдрома пациенты принимали препарат Биовестин (жидкий концентрат бифидобактерий) по 2 мл внутрь за 30 мин до еды 3 раза в день. Продолжительность приема составляла 2 нед, число курсов лечения в дальнейшем равнялось числу курсов химиотерапии. Показателем эффективности лечения являлись переносимость курсов химиотерапии, частота развития диспепсических расстройств.

**Результаты.** Во время или после 1-го курса химиотерапии у пациентов наблюдались боли в животе, метеоризм, многократный жидкий стул, ухудшение аппетита, стоматит. У 21 пациента проявления токсичности укладывались в 1–2 степень (критерии CTC NCIC), у 5 наблюдалась токсичность 3–4 степени, вследствие чего курс химиотерапии был прерван. После начала приема препарата Биовестин у пациентов на курсах химиотерапии и после них не было проявлений диспепсического синдрома 3–4 степени. Токсичность 1–2 степени была отмечена у пациентов с колоректальным раком, получавшим адьювантную химиотерапию по схеме FOLFOX; ни в одном случае лечение не было прервано.

**Выводы.** Отечественный препарат Биовестин (жидкий концентрат бифидобактерий), содержащий живые бифидобактерии и продукты их метаболизма, – достаточно эффективный компонент профилактики и лечения диспепсического синдрома у больных злокачественными опухолями, получающими цитостатическую терапию фторурацилом, для которого развитие подобного рода токсичности характерно.

*А. В. Караулов, Д. В. Кокушков*  
**РЕЗИСТЕНТНЫЕ КРАХМАЛЫ: ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ИХ В ПИТАНИИ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА**

*Московская медицинская академия им. И. М. Сеченова, Москва*

Резистентный крахмал (RS) определяется как «крахмал и продукты его деградации, не абсорбируемые в тонком кишечнике здоровых людей». RS способствует образованию большого количества бутиратов, которые, как предполагается, улучшают состояние толстого кишечника и прямой кишки. Таким образом, RS являются важными предшественниками бутирата, который играет важную роль в обеспечении здоровой слизистой толстой кишки, оказывая противовоспалительное и антипролиферативное действие. На примере клеток карциномы показано, что он увеличивает время деления и стимулирует дифференцировку клеток. Бутират содействует росту нормальных колоноцитов, а в раковых линиях клеток (даже вне толстого кишечника) способствует их апоптозу *in vitro*. Это дает возможность предположить, что бутират играет важную ограничительную роль при возникновении рака прямой кишки. При этом градиент жирных короткоцепных кислот уменьшается от начала кишки к ее концу по мере того, как они адсорбируются и метаболизируются. Этот процесс имеет большое значение, так как многие хронические заболевания толстого кишечника (в том числе рак) локализируются в более периферической области и, возможно, связаны с лимитом жирных короткоцепных кислот. Это показывает, что основной эффект RS связан именно с их метаболитами, а не с ними самими, как это отмечено для полисахаридных и непалисахаридных пищевых волокон, т.е. RS являются, в первую очередь, пребиотиками. Небольшая фракция RS, не ферментирующихся в толстой кишке, играет роль пищевых волокон, стимулирующих эвакуацию из организма фекальных масс, а следовательно, и метаболитов и ксенобиотиков. Кроме того, механизм действия RS включает: повышение параметров местного иммунитета кишечного тракта, изменение иммунных параметров крови и влияние на синтез ДНК.

RS встречаются в некоторых природных крахмалосодержащих источниках и могут также образовываться при переработке натурального сырья. Население Западной Европы, Австралии и ряда других

стран потребляет довольно много крахмала, но содержания в нем RS явно недостаточно. Компания «National Starch Food Innovation» производит коммерческие препараты RS-крахмалов под зарегистрированной торговой маркой Hi Maize. Рекомендуемое технологами компании «National Starch Food Innovation» содержание Hi-Maize 18–20 % в продуктах питания нашло подтверждение в процессе испытаний и подтвердило, что такой процент закладки не повлиял на вкус, внешний вид и текстуру хлебобулочных и макаронных образцов из пшеничной муки высшего сорта при сохранении функционально полезных свойств резистентных крахмалов. Данные продукты приводят к изменениям в микрофлоре кишечника, липидном спектре крови и снижают частоту возникновения колоректального рака. Как показывают наши исследования, RS благоприятно влияют на ключевые параметры противоопухолевого иммунитета человека, тем самым делая возможным их использование в комплексной иммунопрофилактике опухолевых заболеваний кишечника.

*С. Б. Каурдаков, А. В. Шнайдер,  
И. В. Литвинов, В. П. Плеваков*

### **ОСОБЕННОСТИ АНЕСТЕЗИОЛОГИЧЕСКОГО ПОСОБИЯ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ВНУТРИБРЮШНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ С ХИМИОТЕРАПИЕЙ**

*НКЦ онкологии и неврологии «Биотерапия», Новосибирск*

**Введение.** В настоящее время существует несколько моделей внутрибрюшинной гипертермии (ВБГ) с химиотерапией (ХТ), различающихся количеством, качественным составом, путями доставки и эвакуации омывающих растворов, экспозицией, температурным режимом, временем введения и концентрацией химиопрепаратов. Как правило, ВБГ с ХТ является не только заключительным этапом достаточно обширных и травматичных оперативных вмешательств, но и сама по себе является достаточно агрессивной и потенциально шокогенной процедурой, способной вызвать серьезные изменения гомеостаза.

**Цель исследования.** Выработка оптимальной тактики анестезиологического пособия при проведении ВБГ с ХТ, а также тактики ведения больных в раннем послеоперационном периоде. Изучены типичные реакции со стороны сердечно-сосудистой системы, влияние на функционирование паренхиматозных органов, изменения водно-электролитного баланса. Проведен сравнительный анализ 2 вариантов анестезиологического пособия – тотальной внутривенной анестезии с ИВЛ (ТВА с ИВЛ) и ТВА с ИВЛ в сочетании с эпидуральной анестезией (ЭА).

**Материалы и методы.** ВБГ с ХТ проведена 21 пациенту с различной первичной локализацией опухоли, видимой диссеминацией опухоли по брюшине (16 случаев) и без нее (5 случаев). Возраст больных от 31 года до 56 лет, из них женщин 14, мужчин 7. Всем больным в предоперационном периоде проведена коррекция выявленных нарушений гомеостаза. Методика проведения ВБГ во всех случаях была одинаковой. В качестве омывающей жидкости использовался изотонический раствор NaCl в объеме 20–25 л, температурой 49–50 °С. Экспозиция – 20–25 мин. В качестве ХТ использовали цисплатин, который вводился в брюшную полость по окончании процедуры ВБГ. В 10 случаях проводилась ТВА с ИВЛ (1-я группа), в остальных 11 то же, но в сочетании с ЭА (2-я группа). Дозы и препараты для ТВА были одинаковы. Для вводного наркоза использовали пропофол в дозе 3–4 мг/кг/ч. Анальгезия обеспечивалась дробным введением фентанила в расчетных дозировках. Каждые 30–40 мин эпидурально вводился лидокаин – до 200 мг в сочетании с даларгином (0,5–1,0 мг), в обеих группах применяли нейролептик дроперидол (5–7,5 мг). Миоплегию осуществляли стандартными дозами ардуана. В обеих группах в схему защиты от теплового шока были включены антиоксиданты, мембраностабилизаторы, ингибиторы протеолиза.

**Результаты.** В обеих группах не зарегистрировано угрожающих жизни осложнений. Реакция со стороны сердечно-сосудистой системы на этапе ВБГ была незначительной во 2-й группе, в 1-й зарегистрированы более выраженные отклонения, незначительно выходящие за пределы стресс-нормы. Во 2-й группе в послеоперационном периоде не зарегистрировано существенных функциональных и биохимических изменений, в 1-й регистрированы повышение уровня трансаминаз, щелочной фосфатазы, амилазы крови.

**Выводы.** Анестезиологическое пособие в рамках ТВА с ИВЛ в сочетании с ЭА – наиболее адекватный метод при проведении ВБГ с ХТ. Разработанная программа антистрессорной защиты является адекватной профилактикой возможных осложнений.

*Е. С. Клинецова, Т. Г. Щербатюк, А. Г. Артеменко,  
Л. В. Демченко, А. О. Ермакова*

### **КОРРЕКЦИЯ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ И КРИСТАЛЛООПТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ПРИ ТОКСИЧЕСКОЙ МИЕЛОДЕПРЕССИИ**

*ГОУ ВПО НижГМА, Нижний Новгород*

**Введение.** Полихимиотерапия – неотъемлемый компонент комплексного лечения злокачественных опухолей – нередко вызывает широкий спектр системных побочных эффектов, в том числе миелодепессию, которая характеризуется полным или практически полным исчезновением нейтрофильных гранулоцитов в периферической крови, тромбоцитопенией, анемией и в том числе нарушением свободнорадикального (СР) гомеостаза.

**Цель исследования.** Изучение влияния комплекса антиоксидантов (КАО) на СР активность и морфологическую картину плазмы крови животных в ходе цитостатической терапии.

**Материалы и методы.** Эксперименты были выполнены на 20 беспородных собаках (m=11–26кг). Цитостатическую миелодепессию моделировали парентеральным введением циклофосфана (ЦФ) (внутримышечно ежедневно однократно в дозе 5 мг/кг). Забор крови проводился на 1-е, 3-е, 5-е, 7-е, 10-е, 13-е и 15-е сут. В контрольной группе (n=10) назначались только инъекции ЦФ, в опытной (n=10) одновременно с этим вводился комплекс антиоксидантных препаратов – Селен-актив, Гипоксен, Веторон, Аевит и аскорбиновая кислота в течение 10 сут. Показатели СР и общей антиоксидантной активности (АОА) регистрировали на биохемилюминометре БХЛ-06 (Н.Новгород). Информативные показатели – I<sub>max</sub> – максимальная интенсивность свечения исследуемой пробы (mV), отражающая СР активность образца, и S – светосумма хемилюминесценции за определенное время обратно пропорциональна АОА пробы. Технические приемы метода клиновидной дегидратации (В. Н. Шабалин, С. Н. Шатохина, 2001) заключались в том, что 10 мкл биожидкости помещали на предметное стекло и высушивали при температуре 20–25 °С в течение 24 ч, после чего полученные образцы изучали с помощью светового микроскопа.

**Результаты.** Введение ЦФ привело к повышению I<sub>max</sub>, снижению АОА, появлению атипичных трещин и листов в периферической зоне фации плазмы крови, полному исчезновению трещин в центральной зоне. Действие КАО проявилось в сдерживании СР окисления на исходном уровне и сохранению кристаллооптических характеристик плазмы крови; и только после отмены воздействий общая СР активность повысилась на 11 %, а в фации плазмы крови собак увеличилось количество трещин, появились конкреции и исчезли морщины.

**Выводы.** Таким образом, используемый комплекс экзогенных антиоксидантов способен влиять на клеточный метаболизм, поддерживая уровень СРО и морфоструктурные особенности плазмы крови в организме животных с экспериментально вызванным миелотоксическим синдромом.

### **П. В. Лопатин, Л. Е. Барабанов СИСТЕМА ПОДГОТОВКИ И СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ЗНАНИЙ НАУЧНЫХ И НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКИХ КАДРОВ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИХ НИР В ОБЛАСТИ РАЗРАБОТКИ ЛЕКАРСТВ НА ОСНОВЕ ОТОБРАННЫХ СУБСТАНЦИЙ**

*ММА им. И. М. Сеченова, Москва*

До сих пор проблема подготовки и совершенствования знаний научных и научно-технических кадров, обеспечивающих НИР в области разработки лекарств на основе отобранных субстанций, не решена. Это обуславливает необходимость разработки специальных учебных программ и форм послевузовского дополнительного образования. На основе системного анализа нами было построено дерево цели указанной проблемы и определены основные принципы системы подготов-

ки научных и научно-технических кадров, способных обеспечить проведение НИР в рассматриваемой области, и построена графическая модель этой системы. Внутренняя структура системы была построена путем выделения подсистем и отдельных элементов, исходя из дерева цели. Выделены управляющая подсистема и ряд управляемых функциональных подсистем (УФП), блок базовой подготовки, включающий 10 УФП, обеспечивающих формирование базовых знаний и умений, в том числе по физиолого-биохимическим основам лечебного воздействия на патологические процессы, эндобиологические и экзобиологические мишени; конструирования систем, программируемой и удобной доставки действующих веществ к биомишеням; биоэтика и др.

Блок Б формирует специальную подготовку, учитывающую особенности конкретных исследований, поручаемых сотруднику. Этот блок формируется по заказам организаций, например, для специалистов, способных оценивать инновационные проекты, риск менеджеру, различным исследованиям в области биотехнологии, в том числе органов человека и др.

Блок В включает 5 УФП обеспечения учебного процесса. В их числе УФП выбора технологии образования, организации разработки учебно-методического сопровождения учебного процесса, организации учебных баз и др.

Сформулированы 8 основных принципов деятельности этой системы, в том числе гибкость, обеспечивающая быстрее введение в оборот всех значимых новшеств; фундаментализации и индивидуализации подготовки; гуманитаризации образования; внедрение и концепции биоэтики; обеспечение деятельного участия слушателя; тщательный отбор слушателей по критериям их творческих наклонностей.

*П. В. Лопатин, Л. Е. Барабанов*

### **РАЗВИТИЕ НОРМАТИВНО-ПРАВОВОГО ПОЛЯ СОЗДАНИЯ ИННОВАЦИОННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

*ММА им. И. М. Сеченова, Москва*

В настоящее время во всем мире, в том числе в России повысился интерес к созданию инновационных лекарственных средств. В связи с этим проводится большая работа по созданию национальных и международных нормативно-правовых документов и гармонизации их в рамках мирового фармацевтического пространства. Они обеспечивают стандартность и воспроизводимость процедур, связанных с созданием лекарств. Поэтому различными организациями создается система правил добротной практики (система GXP, включающая GLP, GCP, GMP, GDP, GPP и др.), а также требований в форме стандартов ISO.

В России уже созданы национальные документы, гармонизированные с системами GXP и ISO. Среди них следует отметить правила доклинической оценки безопасности фармакологических средств (GLP) – РД 64-126-91 (1992 г.); руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, созданные специалистами ведущих институтов РАМН и Минздрава России, работающих в этой области (2000 г.); российский вариант GCP. В последнее время совершенствуются правила добротного производства (GMP ВОЗ). Они содержат 3 части:

1-я – «управление качеством фармацевтической промышленности: философия и основополагающие элементы». В ней излагаются требования и рекомендации по гигиене, помещениям, оборудованию, сырью, материалам, документации, персоналу, валидации, производству и анализу продукции по контракту, отзыву продукции с рынка и самоинспекции.

2-я – «надлежащая практика производства и контроля качества» представляет руководство по деятельности для осуществления общих принципов обеспечения качества.

3-я – «вспомогательные и дополнительные руководства». В ней рассматриваются специфические моменты, связанные с производством стерильных препаратов; добротная производственная практика производства биологических препаратов; руководство по обеспечению качества фармацевтических и биологических препаратов, полученных с помощью технологий рекомбинантной ДНК. Большое значение для организации производства фармацевтических продуктов, предназначенных для клинических испытаний на людях, имеет дополнительное руководство по GMP ВОЗ. В настоящее время юридический статус фармацевтических препаратов, предназначенных для

клинических испытаний на людях, в различных странах различается. В США, Германии и других странах такие препараты производятся и контролируются как обычные лицензированные. В большинстве других стран они не попадают под действие законодательных и административных положений, регулирующих области инспектирования по GMP ВОЗ. В дополнительном руководстве изложены общие положения, обуславливающие необходимость применения принципов GMP ВОЗ для выполнения условий добротной клинической практики. Обращается особое внимание на то, что испытываемое лекарство должно быть в такой же лекарственной форме (было бы правильнее говорить о системе доставки действующего вещества к биологической мишени, планируемой для промышленного производства).

В настоящее время имеется руководство по добротной производственной практике Комиссии Европейских Сообществ. Этот документ актуален в связи с предстоящим вступлением в ВТО. Международным фармацевтическим сообществом создан специальный документ, регламентирующий производство наиболее ответственных препаратов, в том числе стерильных лекарственных продуктов, биологических лекарственных средств для человека, радиофармацевтических препаратов, лекарственных средств из растительного сырья, жидкостей, кремов, мазей, дозированных аэрозолей и спреев, препаратов, получаемых из крови человека или человеческой плазмы, и др.

В связи с изданием в России закона о техническом регулировании проводится интенсивная работа по созданию отраслевых стандартов и регламентов. Эту работу намечено закончить в ближайшие 2 года. Вместе с тем рабочие группы, создающие эти документы, пока не полностью выполняют процедуры, обеспечивающие привлечение специалистов соответствующих областей обращения лекарств. Это вызывает озабоченность, что важные особенности нормирования отдельных вопросов, особенно важных для практических работников, не будут учтены.

Ощущается острая необходимость более детального регламентирования исследований, связанных с развитием новых медико-фармацевтических наук: доказательная фармакотерапия, фармакоэкономика (клинико-экономического анализа), науки о создании лекарств на основе отобранных соединений (лекаристики), фармацевтической бдительности и др.

*П. В. Лопатин, Л. Е. Барабанов*

### **ОЦЕНКА РЫНОЧНОЙ СТОИМОСТИ ОБЪЕКТА ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ В ОБЛАСТИ СОЗДАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

*ММА им. И. М. Сеченова, Москва*

Разработана методика, позволяющая оценить рыночную стоимость интеллектуальной собственности, создаваемой при разработке лечебно-профилактических лекарственных средств. Методика основана на модели процесса создания лекарств на основе отобранных субстанций.

В качестве системообразующих документов принято Постановление Правительства «Об утверждении стандартов оценки» и «Методические рекомендации по определению рыночной стоимости интеллектуальной собственности» от 26.11.2002 г., а также законы, относящиеся к интеллектуальной собственности.

Определены особенности оценки рыночной стоимости интеллектуальной собственности, создаваемой при разработке лекарственных субстанций и лекарств, которые сформированы в 6 блоках, описывающих особенности, обусловленные: свойствами лекарств; фармакоэкономической целесообразностью создаваемого лекарственного средства и потерями, связанными с отсутствием его на рынке; маркетингом лекарств как товара особого вида; оценкой целесообразности инвестиционного проекта по методике Ю. А. Тихоновой и П. В. Лопатина; временной структурой инвестиций; выводом на рынок.

Рассмотрены 2 группы подходов к рыночной стоимости интеллектуальной собственности и возможности их использования в сфере разработки лекарственных средств: обычно используемые подходы и методы, учитывающие особенности конкретного вида товара. Среди них – доходный подход, затратный, сравнительный.

Сформулированы процедуры, связанные с оценкой интеллектуальной собственности в соответствии с этими методическими подходами.

Определены критерии оценки интеллектуальной собственности в сфере разработки лекарственных средств.

Разработана матрица отчета исследования по оценке рыночной стоимости интеллектуальной собственности.

В связи с неточными или неправильными дефинициями терминов, используемых в научной литературе и нормативно-правовых актах, приведены дефиниции, принятые соисполнителями государственной программы 069-02 в 1973 г. и развитые в концепции, рассматривающей лекарство как материализованную программу эффективной и удобной программированной доставки действующего вещества к биологической мишени.

Сформулирован проект «Методических рекомендаций по оценке рыночной стоимости интеллектуальной собственности, создаваемой в процессе разработки новых и воспроизведения наиболее эффективных зарубежных лекарственных средств».

*Д. О. Маханьков, С. Ю. Сидельников*

### **РАЦИОНАЛЬНАЯ ТАКТИКА ВЕДЕНИЯ БОЛЬНЫХ ОПУХОЛЕВОЙ ОБТУРАЦИОННОЙ ТОЛСТОКИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТЬЮ**

*Челябинский областной онкологический диспансер, Миасс*

Согласно традиционной тактике лечения опухолевой обтурационной толстокишечной непроходимости (ООТКН) начинать терапию необходимо с консервативных мероприятий, продолжающихся несколько часов. Если после проведенной терапии приступ полностью не купирован, это служит показанием к оперативному вмешательству. В случаях, когда приступ острой ООТКН полностью купирован, больной может быть оперирован в плановом порядке. По нашим данным из 71 больного ООТКН 70 % были оперированы по неотложным показаниям, что ограничивало возможности подготовки больного к операции.

В поисках оптимальной хирургической тактики мы выделили среди 142 больных ООТКН 3 клинические группы: 68 (48 %) больных с субкомпенсированной степенью ООТКН, 65 (46 %) с декомпенсированной степенью ООТКН и 9 (6 %) у кого на фоне опухолевой кишечной непроходимости развилась перфорация опухоли с перитонитом. Хирургическая тактика была различна во всех 3 группах. В 1-й клинической группе больным назначался комплекс консервативных мероприятий, который обычно проводился в течение 5–7 дней и оказался эффективным у всех 68 больных. После этого больным выполнялось отсроченное оперативное вмешательство. В то же время при увеличении сроков консервативной терапии свыше 8 сут у 13 больных развился приступ декомпенсированной ООТКН, потребовавшей экстренной операции. Больным 2-й клинической группы также назначался комплекс консервативных мероприятий, проводимый в течение суток. Целью его было частичное разрешение приступа острой кишечной обструкции и перевода его в состояние субкомпенсации, чего удалось добиться у 20 (31 %) больных. Дальнейшая тактика ведения этих больных соответствовала таковой в 1-й клинической группе. В случае неэффективности консервативных мероприятий больным декомпенсированной ООТКН была показана экстренная операция. У больных 3-й клинической группы лишь скорейшая операция могла спасти им жизнь. Увеличение срока, прошедшего с момента перфорации до операции более суток, приводило к 4-кратному увеличению летальности.

Таким образом, при дифференцированном подходе в лечении ООТКН у 62 % больных, оперативное вмешательство может быть отсрочено на 5–7 дней, – срок, необходимый для полноценной подготовки к операции. В результате условия, в которых проходит операция у таких больных, приближаются к условиям планового оперативного вмешательства.

*Ир. Г. Меерович<sup>1</sup>, В. В. Жердева<sup>1</sup>, Л. Р. Арсланбаева<sup>1</sup>,  
В. А. Каменский<sup>2</sup>, Н. М. Шахова<sup>2</sup>, И. В. Турчин<sup>2</sup>,  
А. Г. Орлова<sup>2</sup>, М. В. Ширманова<sup>2</sup>, М. И. Лукашина<sup>3</sup>,  
И. Н. Михайлова<sup>3</sup>, А. Ю. Барышников<sup>3</sup>,  
А. М. Сергеев<sup>2</sup>, А. П. Савицкий<sup>1</sup>*

### **ПРИЖИЗНЕННЫЙ МОНИТОРИНГ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК**

### **С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЛЮОРЕСЦЕНТНО- ДИФФУЗНОЙ ТОМОГРАФИИ И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ФЛЮОРЕСЦИРУЮЩИЕ БЕЛКИ**

<sup>1</sup>*Институт биохимии им. А. Н. Баха РАН, Москва*

<sup>2</sup>*Институт прикладной физики РАН, Москва*

<sup>3</sup>*ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва*

Флюоресцирующие белки (FPs) позволяют как генетически маркировать клетки в целом, так и изучать активность различных рода ферментов, участвующих в нормальных и патологических процессах (протеазы, фосфоорилазы и т.д.). Работа направлена на создание моделей различных опухолей, экспрессирующих флюоресцирующие белки на основе используемых в отечественной экспериментальной онкологии опухолевых клеточных линий, и использование их для прижизненного мониторинга опухолевых клеток у экспериментальных животных.

При помощи плазмид, кодирующих красные флюоресцирующие белки: pDsRed-Express-C1 и pTurbo-RFP-C, были трансфицированы клетки меланом Mel-P, Mel-Koq, а также клетки HEK-293 и рака толстой кишки РТК-8. Трансфицированные клетки были подвергнуты селекции при помощи антибиотика генетицина (G418) либо проточной цитометрии и клонированы, а затем наработаны и охарактеризованы. Полученные флюоресцирующие клетки демонстрируют стабильную флюоресценцию, но не отличаются от исходных клеток по скорости роста.

Создан опытный образец флюоресцентного томографа на волнах фотонной плотности (ФВФП) и проведена его апробация на модельных сильно рассеивающих средах и экспериментальных животных. Установка включает в себя алгоритм 3-мерного восстановления флюоресцирующей опухоли. Разрешение по поперечным координатам составляет порядка 1 мм, а по глубине 1,5–3 мм в зависимости от глубины расположения опухоли.

Осуществлена апробация метода ФВФП на бестимусных мышцах линии NUDE *in vivo* после перевивки флюоресцирующих клеточных линий человека различных концентраций. Результаты экспериментов показали возможность детектирования до 50000 клеток, трансфицированных DsRed-Express и Turbo-RFP при подкожном введении экспериментальным животным и в нескольких временных точках после инъекции.

### *Н. А. Плотникова, В. Н. Карпова, Е. А. Мязков, А. В. Долганов* **ОНКОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ СИНТЕТИЧЕСКИХ АНТИОКСИДАНТОВ И МЕЛАТОНИНА НА МОДЕЛИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗА**

*ГОУ ВПО «Мордовский государственный университет  
им. Н. П. Огарева», Саранск*

**Введение.** Свободные радикалы вызывают изменения в ДНК и повреждения генома, приводящие к накоплению соматических мутаций в разных тканях и инициирующие развитие неоплазий. В связи с этим весьма актуальна возможность использования экзогенных антиоксидантов в качестве геро- и онкопротекторов.

**Цель исследования.** Изучение антиканцерогенного действия экзогенного антиоксиданта – мексидола (уретановая модель канцерогенеза) и исследование влияния мелатонина на выживаемость экспериментальных животных (канцерогенез, индуцированный бенз[α]пиреном). Мелатонин – эндогенный гормон, обладающий биоритмологическим, антиоксидантным и иммуномодулирующим эффектами (В. Н. Анисимов, 2004).

**Материалы и методы.** Эксперименты проводились на 420 белых мышках. Сравнивали количество новообразований легких у животных разных серий и продолжительность жизни экспериментальных животных на фоне введения мелатонина.

**Результаты.** На фоне введенного уретана у 100 % мышей контрольной группы возникали множественные мультицентричные аденомы. Среднее количество аденом у 1 животного составило 22,0±3,2.

Введение мексидола в дозе 10 мг/кг приводило к достоверному снижению среднего числа аденом легких, которое составило

11,5±2,75. При введении мексидола в дозе 0,1 мг/кг среднее число аденом у 1 животного статистически значимо снизилось до 8,7±1,57.

Введение мелатонина в условиях экспериментального канцерогенеза увеличивало продолжительность жизни животных. Средняя продолжительность жизни мышей в контроле составила 162±2,8 дня. В опытных группах данный показатель составил 181±1,9 дней, и в группах, получавших мелатонин в дозах 20 мг/л и 2 мг/л, 186±1,7 дней соответственно.

**Выводы.** Полученные экспериментальные данные свидетельствуют об онкопротекторной активности мексидола и мелатонина, при этом вышеуказанные свойства синтетических антиоксидантов и мелатонина более выражено проявляются при применении в меньших дозах.

*В. И. Соловьев, И. В. Абраменкова,*

*Е. Н. Семкина, А. П. Печеный*

### **ФАРМАКОЭКОНОМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОБОСНОВАННОСТИ ПРИНЯТИЯ РЕШЕНИЙ ПО ОПТИМИЗАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННОГО ЛЕЧЕНИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ**

*Областной онкологический клинический диспансер, Смоленск*

В современных условиях представляется актуальным применение существующих и внедрение новых методов повышения экономической обоснованности принятия решений по оптимизации затрат на лекарственное лечение онкологических больных.

Для фармакоэкономического анализа (ФЭК) исследований в онкологии из 4 основных видов анализа, по нашему мнению, наиболее перспективными являются:

«стоимость – эффективность» для определения и сравнения стоимостей и результатов применения лекарственных препаратов;

«стоимость – польза» для оценки клинической эффективности исследуемого препарата в единицах, соотносимых с качеством жизни.

Поэтому именно моделирование является необходимым этапом обобщения информации и построения общей модели принятия решений. Нами предложена информационная система с интегрированным интеллектуальным модулем СППР с использованием клиент-серверной технологии. Модуль СППР предполагает несколько ступеней обработки поступающей информации:

1. После предварительной обработки данных производится ретроспективный анализ последствий принимаемых решений (данные об эффективности лечебного процесса и соответствующих затратах на лекарственное лечение по разным схемам).
2. Данные анализа сравниваются с результатами прогнозирования затрат на том же временном интервале.
3. Производится прогнозирование возможности экономии затрат на уровне каждого структурного подразделения (стационара, амбулаторного приема, функциональной диагностики и т.д.).
4. Строится дерево решений с вариантами и вероятностями развития ситуации. Поддерживаются положительные и компенсируются отрицательные тенденции в развитии ситуации расходования средств для обеспечения лечебного процесса.

Таким образом объективная оценка и оптимизация структуры потребления отечественных и импортных, оригинальных и генерических препаратов должны проводиться с использованием эффективной СППР, способной предоставлять всестороннюю информацию о развитии ситуации на уровне каждого структурного подразделения здравоохранения и выявлять неприемлемые соотношения «стоимость/эффективность».

*А. В. Соснов, В. И. Казей*

### **ПОИСК НОВЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ, ДЕЙСТВУЮЩИХ НА КИНАЗНЫЕ БИОМИШЕНИ**

*Исследовательский институт химического разнообразия, Химки*

Исследовательский институт химического разнообразия выполняет ряд исследовательских проектов по разработке новых противоопухолевых соединений. При этом используются научно-технологические подходы, позволяющие получать и исследовать 10–20 тыс. новых соединений в месяц. Основными компонентами данной исследовательской технологии являются:

- Компьютерный скрининг «виртуальных» библиотек химических

соединений, позволяющий отбирать наиболее перспективные соединения на стадии планирования синтеза на основе информации о свойствах десятков миллионов биологически активных веществ.

- Комбинаторный синтез библиотек соединений, обладающих высоким потенциалом биологической активности.
- Роботизированный высокопроизводительный скрининг веществ на основе созданной в ИИХР уникальной панели биомишеней.
- Роботизированный высокопроизводительный скрининг веществ на клетках различных видов опухолей.
- Оптимизация фармакодинамических и фармакокинетических свойств наиболее активных веществ (hit-to-lead оптимизация) с использованием разработанных в ИИХР оригинальных программных средств и математических моделей.

Полученные в результате выполнения данных этапов соединения-лидеры направляются на дальнейшие биологические испытания.

В качестве биомишеней для скрининга веществ на противоопухолевую активность используются: киназы (Auroga A, GSK-3beta, IGF-1R, c-met, PLK1, ABL1, AKT1), регулирующие развитие различных видов злокачественных опухолей; хемокиновые рецепторы (CxCR4, CCR5), связанные с образованием метастазов; структурные белки, такие, как Тубулин.

В результате выполнения Государственного контракта с ФАНИ «Поиск новых противоопухолевых соединений, действующих на киназные биомишени, с использованием технологий виртуального скрининга, комбинаторного синтеза и биологического скрининга», шифр 2005-РП-34.0/008/022 была разработана технология поиска новых противоопухолевых соединений, действующих на основе ингибирования киназных ферментов, а также получен ряд уникальных веществ.

В рамках выполнения проекта МНТЦ/DOE «Химиотерапия рака предстательной железы» разрабатываются новые средства терапии гормонорезистентных злокачественных опухолей предстательной железы на основе ингибиторов специфических киназ.

*Е. Я. Страчунская, В. И. Соловьев, И. В. Абраменкова*

### **ОБЩИЕ ПОДХОДЫ К ВВЕДЕНИЮ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ И ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ В ФАРМАКОЭКОНОМИЧЕСКИХ РАСЧЕТАХ**

*Областной онкологический клинический диспансер, Смоленск*

*Смоленская государственная медицинская академия*

Наиболее распространенный метод клинико-экономического анализа, целью которого является определение, исследование и сравнение стоимости и эффективности нескольких лекарственных препаратов или терапевтических схем с разной эффективностью – это анализ «затраты (стоимость) / эффективность».

В данной работе предложен специально разработанный методологический подход к расчету коэффициента «стоимость/эффективность» с возможностью определения клинического результата лечения хронически текущей патологии в зависимости от схемы лечения и дозировок отдельных препаратов, например, в виде коэффициентов эффективности (КЭ): индивидуальных КЭ – ИКЭ, средних КЭ – СКЭ и т.д.

Одна из причин получения «размытых», а подчас и ошибочных результатов в конкретных ФЭК расчетах – отсутствие анализа индивидуальных особенностей течения заболевания с позиций формального критерия, желательно выраженного в численном виде.

Следует отметить, что ИКЭ является строго индивидуальной характеристикой течения заболевания по каждому из исследуемых и изменяющихся с течением времени показателей, характеризующих качество жизни конкретного больного, а СКЭ является усредненной характеристикой для группы больных со сходными течениями. Если это необходимо, то рассчитывается зависимый от дозы препарата ИКЭ – ИКЭ(DDD).

Введение величин ИКЭ и СКЭ позволяют рассчитать коэффициент «стоимость / эффективность» и инкрементальную стоимость. При этом под положительным результатом лечения в группе пациентов с клиническим улучшением или стабилизацией симптомов заболевания будем понимать всех больных с ИКЭ (или ИКЭ(DDD), если его расчет необходим) меньшим или равным среднему для данной группы.

Похожая проблема возникает при анализе «затраты – полезность

(утилитарность)», когда необходимо оценить результаты вмешательства в единицах «полезности» с точки зрения потребителя медицинской помощи (например, качество жизни); при этом наиболее часто используется интегральный показатель «сохранные годы (месяцы) качественной жизни» (QALY(M)).

Введение величин ИКЭ и СКЭ позволяют рассчитать коэффициент «затраты – полезность». При этом интегральный показатель «сохранные месяцы качественной жизни» (QALM) будем рассчитывать как разницу между величиной интервала наблюдения и «штрафным» количеством месяцев, потерянных в группе «прогрессирование заболевания». «Штрафное» количество месяцев исчисляется в группе «прогрессирование заболевания», в зависимости от доли случаев, для которых сохраняется неравенство  $ИКЭ(DDD) \leq СКЭ_{\text{прогресс}}$ .

Ю. А. Тихонова

## РОЛЬ ИННОВАЦИЙ В РАЗВИТИИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

ОАО «Отечественные лекарства», Москва

Одним из важнейших условий, определяющих успех фармацевтической промышленности, является ее способность обеспечивать потребителя новыми экономически оправданными лекарственными препаратами. В связи с этим возникает необходимость проработки как проблем организации выпуска импортозамещающей фармпродукции, так и научных исследований по созданию оригинальных отечественных ЛС, организации их производства и продвижения на рынок.

Анализ внешней окружающей среды свидетельствует о положительных перспективах роста фармацевтического рынка в будущем, что подтверждается прежде всего демографической ситуацией в мире, ростом населения большинства континентов, его «старением» вследствие увеличения продолжительности жизни в экономически развитых странах, повышением миграционной активности в силу различных политических, социальных и военных конфликтов. Развитие науки и техники способствует негативным изменениям природной среды, приводит к нарушению экологического равновесия, развитию заболеваемости, следовательно – к повышению потребности в лекарственных средствах нового поколения, более сложных и эффективных.

Эпидемиологическая обстановка в России последних лет, когда возвращаются контролируемые болезни (туберкулез, сифилис, холера), а также появляются в значительном количестве новые заболевания, заставляет рассматривать процесс вытеснения оригинальных препаратов как опасное «оголение» фронта борьбы с болезнями. Ученые также опасаются потери эффективности медицинских препаратов, традиционно применяемых при лечении широко распространенных заболеваний. Все это свидетельствует о дефиците инноваций в фармацевтической промышленности.

Многие развитые государства увеличивают ассигнования правительства на национальные программы здравоохранения по актуальным направлениям развития современной медицины, в частности, на борьбу с социально значимыми болезнями, такими, как сердечно-сосудистые, онкологические, туберкулез, сахарный диабет и др.

Национальные интересы России требуют решительных действий по формированию и реализации собственной промышленной и инновационной политики страны, отвечающей новым экономическим и социально-политическим реалиям, обеспечивающей крупномасштабный приток капитала для модернизации производства. Фармацевтическая промышленность, будучи составляющей национальной безопасности страны, призвана, с одной стороны, улучшать и сохранять, восстанавливать и поддерживать здоровье нации, а с другой – увеличивать экономический потенциал страны. В связи с этим необходимо рассматривать и решать проблемы как организации выпуска импортозамещающей фармпродукции, так и научных исследований по созданию оригинальных отечественных ЛС, организации их производства и продвижения на внутренний и внешний рынки; наличие на фармацевтическом рынке необходимой номенклатуры лекарств в достаточном количестве по доступной цене – одна из основных задач государственной политики в области охраны здоровья населения и обеспечения национальной безопасности.

С. В. Чулкова, О. А. Бочарова, А. А. Клименков, Р. В. Карпова  
**РЕЗУЛЬТАТЫ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ**

## РАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА ЖЕЛУДКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФИТОАДАПТОГЕНА

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

**Введение.** Применяемые методы лечения рака желудка (РЖ) не обладают достаточной эффективностью, и поиск новых методов терапии является актуальным.

**Цель исследования.** Коррекция иммунобиологических показателей (иммунного и антиоксидантного статуса, уровня гормона кортизола и опухолеассоциированных маркеров) с помощью фитоадаптогенного препарата Фитомикс-40 (ФМ-40) и оценка его эффективности в комплексном лечении больных распространенным РЖ. В экспериментальных и клинических исследованиях показана безвредность ФМ-40, выявлены антиоксидантная, антимагистатическая и иммуномодулирующая активности, радиопротекторный эффект, антимутагенное и гормонотомулирующее действия.

**Материалы и методы.** В исследовании участвовали больные распространенным РЖ с отдаленными метастазами в печень, легкие, яичники, по брюшине. Группы пациентов: 1-я (опытная, 19 человек) – больные РЖ, принимавшие ФМ-40 на протяжении основного лечения (операция + ПХТ), включая предоперационный период (7 дней); 2-я (контрольная, 20 человек) – больные РЖ, не принимавшие ФМ-40 на протяжении основного лечения (операция + ПХТ); 3-я (опытная, 16 человек) – больные РЖ, которым было выполнено хирургическое пособие, принимавшие ФМ-40; 4-я (контрольная, 27 человек) – больные РЖ, которые перенесли только оперативное вмешательство. Все операции носили паллиативный характер. Химиотерапию проводили 39 больным по схеме ELF, курсы повторяли каждые 3 нед. Всего проведено 117 курсов.

**Результаты.** В работе показано иммуномодулирующее, в том числе интерферогенное и адгезиогенное, а также антиоксидантное и антистрессорное действия ФМ-40 в комплексном лечении больных распространенным РЖ. При оценке клинической эффективности установлено, что средняя продолжительность жизни в 1-й группе (операция + ПХТ + ФМ-40) составила 14,3 мес (медиана выживаемости – 11 мес), в контрольной 2-й группе – 5,4 мес. В 3-й группе средняя продолжительность жизни больных, перенесших операцию на фоне приема ФМ-40 без последующей полихимиотерапии, составила 15,1 мес (медиана выживаемости – 12 мес), в контрольной 4-й группе – 6,3 мес. Включение ФМ-40 в комплексное лечение больных РЖ позволило добиться проведения большего количества курсов ПХТ: в 1-й группе больных, получавших ФМ-40 на фоне основного лечения, было проведено в 1,7 раза больше курсов полихимиотерапии по сравнению с контрольной 2-й группой (73 и 44 курса соответственно).

**Выводы.** Проведенные исследования показали возможность повышения эффективности лечения распространенного РЖ с помощью комплексного фитоадаптогенного препарата.

В. И. Шейченко<sup>1</sup>, О. А. Бочарова<sup>2</sup>, О. П. Шейченко<sup>1</sup>,  
О. Н. Толкачев<sup>1</sup>, Р. В. Карпова<sup>2</sup>, Е. В. Бочаров<sup>3</sup>, В. А. Быков<sup>1</sup>

## О КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ИЗМЕРЕНИЯХ ПРЕПАРАТА ФИТОМИКС-40 И ЕГО КОМПОНЕНТОВ

<sup>1</sup>ВИЛАР, Москва

<sup>2</sup>ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

<sup>3</sup>ГУ НИИ общей патологии и патофизиологии, Москва

Для количественного анализа водно-спиртовых экстрактов, входящих в состав фитоадаптогена Фитомикс-40, нами выбран спектрофотометрический метод, в котором использован показатель удельного поглощения экстракта ( $EM_{1\%,1cm}$ ). Величина удельного показателя поглощения индивидуальных веществ (УППЭ) в максимуме поглощения ( $D_{max}$ ) в УФ спектре экстрактов может быть определена по формуле:

$$EM_{1\%,1cm} = D_{max}/c,$$

где  $c$  – концентрация рабочего раствора.

Процентное содержание (X%) веществ в экстракте определяется по формуле:

$$X(\%) = (EM)_{изм}/(EM)_{ст},$$

где  $(EM)_{изм}$  и  $(EM)_{ст}$  – значения УППЭ в анализируемом и стандартном образце соответственно.

При постоянной величине разбавлений содержание экстрактивных веществ может быть определено непосредственно по величине

поглощения (D) испытуемого раствора при измеряемой длине волны. В этом случае существенно упрощается методика количественного определения. Формула расчета имеет следующий вид:

$$X(\%) = D_a / D_{ст},$$

где  $D_a$  и  $D_{ст}$  – величины поглощения анализируемого и стандартного растворов образца.

Величина  $D_a$  не должна быть ниже значения  $D_{ст}$ . Для количественных измерений нами получены значения максимумов поглощения ( $D_a$ ) в УФ спектрах, включая разностные спектры для препарата Фитомикс-40 и его компонентов, которые могут быть использованы в

качестве стандартных величин для других измерений.

Для препарата Фитомикс-40 концентрация  $C = 4,4$  мг%, максимум поглощения 278,4 (D 0,37). В спектре раствора с  $AlCl_3$  максимум поглощения 281,8 нм (D 0,35). В разностном спектре максимумы поглощения находятся при 235,8 нм (D 0,20), 316,7 нм (D 0,11), 402,3 нм (D 0,03).

Исследования показали перспективность использования электронных спектров для количественных измерений препарата Фитомикс-40 и его компонентов, включая возможность проведения экспресс-анализа.