

приводило к увеличению уровня экспрессии гена *PRAME*. Путь индукции экспрессии *PRAME* при помощи ЛПС остался неизвестным, но можно предположить, что одним из важных компонентов этого пути является MYD88, ответственный за TLR-сигналинг. С учетом гомологии белка *PRAME* и Toll-подобных рецепторов ЛПС и моноклональные антитела (МКА), возможно, передают активирующий сигнал к гену *PRAME* по TLR-зависимому сигнальному пути.

Цель исследования — установить роль TLR-зависимого сигналинга в индукции экспрессии гена *PRAME*.

Материалы и методы. Линия клеток K562, характеризующаяся высоким уровнем экспрессии гена *PRAME*, была подвергнута воздействию ЛПС (концентрация в культуральной среде 20 мкг/мл) и МКА 6Н8 (1, 5 и 50 мкг/мл), распознающих поверхностный белок *PRAME*. Через 1 и 4 ч инкубирования проводилась экстракция тотальной клеточной РНК для определения уровня экспрессии генов *PRAME* и *MYD88*. Для статистического анализа использовались коэффициент корреляции Пирсона и критерий Уилкоксона.

Результаты. При воздействии ЛПС и МКА против белка *PRAME* увеличился уровень экспрессии генов *PRAME* и *MYD88*. Корреляция между уровнем экспрессии этих 2 генов была прямой и высокозначимой (коэффициент корреляции Пирсона 0,87, $p = 0,04$). Увеличилось число клеток, находящихся в состоянии апоптоза ($p = 0,0024$) и доля погибших клеток ($p = 0,0021$).

Заключение. Показана роль TLR-зависимого сигнального пути в индукции экспрессии гена *PRAME* и выявлен *MYD88* в качестве посредника. Гиперэкспрессия *PRAME* приводила к снижению жизнеспособности клеток K562.

В.А. Мисюрин, А.А. Рудакова, А.В. Пономарёв, О.С. Бурова, Л.Ф. Морозова, М.А. Барышникова
ИССЛЕДОВАНИЕ ПУТЕЙ ИНИЦИАЦИИ АПОПТОЗА ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМОЙ АРАНОЗЫ
ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России,
Москва, Россия

Введение. Ранее обнаружено, что липосомальная лекарственная форма оказывает на клеточные линии меланомы более выраженное цитотоксическое действие, чем субстанция аранозы или лекарственная форма «лиофилизат для приготовления раствора для инъекций». Однако механизм уничтожения опухолевых клеток липосомальной формой аранозы малоизучен.

Цель исследования — сравнить влияние липосомальной аранозы и субстанции аранозы на компоненты системы апоптоза *MDM2* и *TP53*.

Материалы и методы. Исследования проводили на 11 клеточных линиях меланомы пациента: mel Ibr EEMC, mel Ibr, mel Is, mel Gus, mel Me, mel Mtp, mel Bgf, mel Kor, mel Hn, mel Cher, mel II и mel H. Клеточные линии культивировали в стандартных условиях в RPMI-1640 с добавлением 10 % сыворотки. По достижении монослоя в культуральные флаконы добавляли субстанцию аранозы и липосомальную аранозу в концентрации IC50, ранее найденной в МТТ-тесте. Через 24 ч инкубации клетки удаляли с культуральных флаконов для последующего выделения РНК и определения уровня экспрессии генов *MDM2*

и *TP53*. Статистически данные анализировали при помощи критерия Уилкоксона (программа STATISTICA 10).

Результаты. Через 24 ч после добавления липосомальной аранозы уровень экспрессии гена *MDM2* в линиях mel Ibr EEMC, mel Ibr, mel Is, mel Gus, mel Me, mel Mtp, mel Bgf и mel Kor был ниже в среднем на 500 % по сравнению с теми же линиями, инкубированными с субстанцией аранозы ($p = 0,0179$). В линиях mel Hn, mel Cher, mel II и mel H, напротив, уровень экспрессии гена *MDM2* был в среднем на 10 % выше после инкубации с липосомальной аранозой, чем при условии их инкубирования с субстанцией аранозы, однако эти различия были недостоверны ($p = 0,4652$). Уровень экспрессии гена *TP53* в линиях mel H, mel II, mel Hn, mel Bgf и mel Kor после инкубации с липосомальной аранозой был в среднем на 75 % выше, чем после инкубации с субстанцией аранозы. После применения липосомальной аранозы уровень экспрессии *TP53* в линиях mel Me, mel Mtp, mel Ibr EEMC, mel Cher, mel Is, mel Gus был в среднем на 30 % более низким по сравнению с теми же линиями, инкубированными с субстанцией аранозы. Наибольшим изменениям подвергся уровень экспрессии гена *MDM2*, который либо существенно повысился в условиях применения липосомальной аранозы, либо значительно не изменился.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о влиянии липосомальной аранозы на чувствительность клеток меланомы к апоптозу посредством снижения уровня экспрессии гена *MDM2*, кодирующего ингибитор проапоптотического белка *TP53*.

А.Е. Мисюрин^{1,2}, В.А. Мисюрин^{2,3}, А.В. Мисюрин^{2,3}, А.М. Ковригина¹, С.К. Кравченко¹, Е.А. Барях⁴, А.У. Магомедова¹, Е.Н. Пушкова², Ю.П. Финашутина^{2,3}

МУТАЦИЯ ГЕНА *TP53* — ПРЕДИКТОР ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ОТВЕТА У ПАЦИЕНТОВ С ВЫСОКОАГРЕССИВНОЙ В-КЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМОЙ

¹ФГБУ ГНЦ Минздрава России, Москва, Россия;

²ООО «ГеноТехнология», Москва, Россия;

³ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия;

⁴ГКБ № 52, Москва, Россия

Введение. Мутации в гене *TP53* (MUT-TP53) приводят к блокированию апоптоза в клетках и возникновению в них дополнительных онкогенных событий, способствующих опухолевой прогрессии. Неясна корреляция MUT-TP53 с противоопухолевым ответом у пациентов с высокоагрессивной В-клеточной лимфомой (high grade B-cell lymphoma, HGBCL).

Цель исследования — оценить влияние мутаций в гене *TP53* у пациентов с HGBCL на результативность терапии и сопоставить с другими известными прогностическими критериями.

Материалы и методы. За период наблюдения [медиана наблюдения 10,8 мес (0,6–160,9)] в ФГБУ ГНЦ Минздрава России получали лечение 32 пациента с установленным диагнозом HGBCL (11 — double-hit (DH), 21 — неспецифицированная, NOS). *MYC-R* выявлена у 7 пациентов HGBCL, NOS. Все пациенты получали интенсивную им-

мунополихимиотерапию. Мутации в экзонах 5–8 *TP53* определялись секвенированием по Сэнгеру ДНК опухолевых клеток. Для оценки влияния на общую выживаемость (ОВ) и время до прогрессирования заболевания (ТТР) факторов *MUT-TP53*, *MYC-R* и *DH* проведен однофакторный событийный анализ (критерий Каплана Мейера, логранговый тест) и многофакторный дисперсионный и Кокс-регрессионный анализ (STATISTICA 10).

Результаты. Значимые *MUT-TP53* выявлены у 9 пациентов. Группы с *WT-TP53* и *MUT-TP53* сопоставимы по основным клиническим характеристикам. По результатам однофакторного анализа пациенты с *MUT-TP53* имели худшие показатели ОВ и более высокую вероятность прогрессирования заболевания. Так, медиана ОВ пациентов с *MUT-TP53* составила 7,0 (3,5–40,9) против 30,5 (0,6–160,9) мес у пациентов с *WT-TP53* ($p = 0,03$). Медиана времени до прогрессирования заболевания у пациентов с *MUT-TP53* составила 3,5 (0,3–16,1) vs 30,5 (0,6–160,9) мес у пациентов с *WT-TP53* ($p = 0,00016$). При многофакторном анализе *MUT-TP53* — независимый фактор раннего прогрессирования *HGBCL* как в группе *DH*, так и *HGBCL NOS*.

Заключение. Мутации в гене *TP53* — значимый предиктивный фактор раннего прогрессирования заболевания. Данная группа пациентов нуждается в новых подходах к терапии.

*Н.А. Михеева¹, Г.С. Терентюк¹, В.А. Михеев²,
Е.П. Дрождина¹, Н.А. Курносова¹*

ОЦЕНКА ПРОНИЦАЕМОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕВЫХ БАРЬЕРОВ ДЛЯ ЗОЛОТЫХ НАНОЧАСТИЦ *IN VIVO*

¹ФГБОУ ВО «УлГУ», Ульяновск, Россия;

²ФГБОУ ВО «УлГПУ им. И.Н. Ульянова», Ульяновск, Россия

Введение. Биологические тканевые барьеры (БТБ), такие как кожа и гистогематические барьеры (ГГБ), представляют собой структурно-функциональные механизмы, выполняющие регуляторную и защитную функции. Одним из перспективных наноматериалов являются золотые наночастицы (ЗНЧ), применяемые в диагностике, направленном транспорте лекарств, оптической визуализации клеточных структур, фототермической и фотодинамической терапии и т.д. Однако несмотря на это вопрос о возможном проникновении НЧ через БТБ остается мало изученным, что ограничивает возможности для их биомедицинского применения.

Цель исследования — изучить проницаемость БТБ *in vivo* для ЗНЧ разного размера.

Материалы и методы. Самкам белых крыс в хвостовую вену на 15-е сутки беременности вводили 0,7 мл суспензии 5, 10, 30, 50 и 150 нм ПЭГелированных ЗНЧ. Для изучения проницаемости эпидермиса для ЗНЧ на эпилированную кожу спины белых крыс наносили гель, содержащий наночастицы (диаметр 160 нм). Для усиления проникновения ЗНЧ в кожу использованы физические (частичная лазерная абляция и ультразвуковое (УЗ) воздействие), химические методы [диметилсульфоксид (ДМСО) и тиофансульфоксид (ТСО)], а также сочетанное применение физико-химических методов. В качестве контроля взяты интактные животные. Для визуализации зон накопления

ЗНЧ в коже и органах использовали метод аутометаллографии нитратом серебра, ОКТ, а содержание золота в тканях оценивали методом ААС.

Результаты. Установлена проницаемость ЗНЧ диаметром 5, 10, 30 и 50 нм через плаценту хориального типа белых крыс: общее содержание ЗНЧ указанных диаметров в плодах достоверно превышает таковое плодов контрольной группы примерно в 8 раз. ЗНЧ присутствуют в печени и селезенке плодов. Гематоэнцефалический барьер оказывается проницаемым для ЗНЧ диаметром 5 нм. Простое нанесение геля с ЗНЧ неэффективно для их доставки в кожу за счет пассивной диффузии. Показано, что лазерная абляция кожи перед нанесением геля и последующая УЗ обработка позволяет преодолеть роговой слой и доставить золотые наночастицы в дерму. Применение ДМСО обуславливает преодоление ЗНЧ рогового слоя эпидермиса, которые достигают сосочкового слоя дермы. Использование ТСО не способствует трансдермальному транспорту ЗНЧ через здоровую кожу. Оптимальным методом усиления трансдермального транспорта ЗНЧ через роговой слой эпидермиса следует признать мультимодальное физико-химическое воздействие (комбинация ДМСО и УЗ воздействие).

Заключение. Продемонстрирована размерная зависимость проницаемости ГГБ для ЗНЧ при парентеральном введении. Сочетанное физико-химическое воздействие является оптимальным методом усиления трансдермального транспорта ЗНЧ. Полученные данные свидетельствуют о возможном применении ЗНЧ в диагностических и терапевтических целях *in vivo*.

*В.А. Мумятова, А.А. Балакина, М.А. Лапина, В.Д. Сень,
А.Б. Корнев, А.А. Терентьев*

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИРОВАНИЯ БЕЛКА p53 НА ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ГЕНОТОКСИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

*ФГБУН ИПХФ РАН, Черногоровка, Московская область,
Россия*

Введение. Побочные эффекты действия современных противоопухолевых препаратов, применяемых в химиотерапии, часто связывают с нарушением про- и антиоксидантного баланса клеток. Недавно обнаружена взаимосвязь активных форм кислорода, антиоксидантной системы (АОС) и белка p53 в процессах регуляции сигнальных систем клеток. Таким образом, в противоопухолевой терапии белок p53 может играть важную роль в механизмах клеточного ответа на уровне окислительно-восстановительного баланса.

Цель исследования — анализ экспрессии генов АОС опухолевых клеток MCF-7 при действии генотоксических соединений в норме и при ингибировании функции белка p53.

Материалы и методы. Исследование проводили на линии опухолевых клеток MCF-7 (аденокарцинома молочной железы пациента). В работе использовали цисплатин и аминитроксилированный комплекс платины (IV) — BC-131, в дозе IC50. Накопление белка p53 исследовали методами иммуноблоттинга и иммунофлуоресценции. Выделение суммарной РНК проводили с использованием реагента ExtractRNA («Евроген») согласно методике производителя. Синтез первичной цепи к-ДНК проводили с помощью