

MMLV RT kit («Евроген») по методике производителя. Уровень экспрессии генов *sod2*, *cat* и *txn* определяли методом ПЦР в реальном времени с помощью qPCRmix-HS SYBR («Евроген») согласно методике производителя. Для ингибирования функции р53 использовали -пифитрин.

Результаты. Установлено, что исследуемые соединения вызывают накопление белка р53 в ядрах клеток часов, при этом также повышается экспрессия гена *p21* — прямой мишени белка р53. Это говорит о р53-зависимом механизме действия исследуемых комплексов. Установлено, что исследуемые соединения увеличивают экспрессию генов АОС *sod2*, *cat*, а также гена *txn*. Наиболее выраженный эффект наблюдается при действии комплекса ВС-131. Установлено, что α -пифитрин подавляет транслокацию белка р53 из цитоплазмы в ядро и тем самым может ингибировать р53-зависимую транскрипцию генов. Использование α -пифитрина заметно снижало накопление белка р53 в ядрах клеток, а также подавляло экспрессию гена *p21* до уровня контроля. Аналогичное снижение уровня экспрессии до контрольного уровня при использовании α -пифитрина наблюдали для изученных генов АОС.

Заключение. Установлено, что цисплатин и комплекс ВС-131, вызывая накопление белка р53 в ядрах, повышают экспрессию генов АОС, при этом α -пифитрин снижает как эффективность транслокации белка р53 в ядро, так и экспрессию генов *p21*, *sod2*, *cat* и *txn*. Полученные результаты говорят об участии опухолевого супрессора р53 в регуляции АОС на уровне экспрессии генов.

В.В. Мусияк, М.Г. Первова, Т.В. Матвеева, Г.Л. Левит, В.П. Краснов

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПРОДУКТОВ РАЗЛОЖЕНИЯ АЛКИЛНИТРОЗОМОЧЕВИН РАЗЛИЧНОГО СТРОЕНИЯ МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

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

Введение. Противоопухолевое действие алкилнитрозомочевин (АНМ) обусловлено их способностью к гидролитическому разложению в условиях организма с образованием активных алкилирующих и карбамоилирующих частиц, вступающих во взаимодействие с фрагментами ДНК опухолевой клетки. В связи с этим важной задачей представляется установление механизма разложения АНМ, в частности применяющихся в клинической практике препаратов кармустинов и лизомустинов, а также нового препарата ормустина.

Цель исследования — идентификация летучих продуктов гидролитического разложения противоопухолевых препаратов кармустинов, лизомустинов, ормустина, протекающего в условиях, близких к физиологическим.

Материалы и методы. Гидролитическое разложение активных фармацевтических субстанций противоопухолевых препаратов кармустинов (1,3-бис (2-хлорэтил) — 1-нитрозомочевина), лизомустина (смесь Ne-нитрозо-Ne- [(2-хлорэтил) — карбамоил] -L-лизина и Ne- [(2-хлорэтил) — N-нитрозокарбамоил] -L-лизина) и ормустина (смесь Nd-нитрозо-Nd- [(2-хлорэтил) карбамоил] -L-орнитина и Nd- [(2-хлорэтил) — N-нитрозокарбамоил] -L-

орнитина), а также индивидуальных изомеров положения нитрозогруппы, входящих в состав препаратов лизомустина и ормустина: Ne-нитрозо-Ne- [(2-хлорэтил) карбамоил] -L-лизина и Nd-нитрозо-Nd- [(2-хлорэтил) — карбамоил] -L-орнитина проводили в условиях, близких к физиологическим (температура 37 °С, трис-буфер, pH 7,1). Методом газожидкостной хроматографии проведен парофазный анализ состава реакционной смеси, а также исследован состав полученного на ее основе эфирного экстракта.

Результаты. Показано, что при разложении кармустина происходит образование винилхлорида, ацетальдегида, 1,2-дихлорэтана, 2-хлорэтанола, 2-хлорэтилизоцианата, 1,3-бис- (2-хлорэтил) мочевины, что согласуется с литературными данными. При разложении лизомустина и ормустина установлено образование винилхлорида, ацетальдегида, 1,2-дихлорэтана, 1,3-бис- (2-хлорэтил) мочевины. Также при разложении ормустина помимо указанных продуктов зафиксировано образование пропена. Следует отметить, что при разложении индивидуального Ne-нитрозо-Ne- [(2-хлорэтил) карбамоил] -L-лизина наблюдали образование только 1,3-бис- (2-хлорэтил) мочевины и винилхлорида, а при разложении Nd-нитрозо-Nd- [(2-хлорэтил) карбамоил] -L-орнитина — 1,3-бис- (2-хлорэтил) мочевины и пропена.

Заключение. Согласно полученным данным, разложение лизомустина и ормустина происходит, так же как и кармустина, через образование промежуточных алкилдиазогидроксидов и алкилизоцианатов. Образование пропена при разложении ормустина и Nd-нитрозо-Nd- [(2-хлорэтил) карбамоил] -L-орнитина, по видимому, связано с протекающим в условиях реакции превращением 5- (2-амино-1-карбоксивентил) карбокатиона. Образование винилхлорида при разложении Ne-нитрозо-Ne- [(2-хлорэтил) карбамоил] -L-лизина, вероятно, указывает на протекание в реакционной смеси процесса перенитрозирования.

Р.Д. Мустафаев, Г.В. Тихов, Р.Ч. Муришдди МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ БРЮШИНЫ ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ САНАЦИИ

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

Введение. Одним из наиболее важных и ответственных этапов при оперативных вмешательствах, выполняемых в условиях перитонита, является адекватная санация брюшной полости. Развитие фотодинамической терапии (ФДТ) и успешное внедрение данной методики в клиническую практику позволяют осуществить попытку изучения возможности применения ФДТ для лечения распространенного перитонита.

Цель исследования — изучить и описать динамику морфологических изменений в брюшине у лабораторных животных с острым перитонитом после проведения сеансов ФДТ.

Материалы и методы. В работе использованы 96 крыс-самцов линии Вистар массой тела 200–250 г. Для создания модели калового перитонита воспользовались модифицированной методикой В.А. Лазаренко и соавт., основанной на использовании профильтрованной 10 % каловой взвеси в дозе 0,5 мл на 100 г. На 3-и сутки животных во всех груп-

пах в условиях общей внутривенной анестезии подвергали оперативному вмешательству — лапаротомии и санации брюшной полости. Для оценки эффективности лечения острого разлитого перитонита животные были поделены на 2 группы. В основной группе санацию брюшной полости после лапаротомии проводили методом ФДТ, в контрольной — 2 % раствором хлоргексидина. В опытной группе животным внутривенно вводили фотосенсибилизатор «Фотодитазин» в дозе 0,8 мг/кг за 120–150 мин до лапаротомии. В качестве источника света для проведения сеанса ФДТ использовали лазер «АТКУС-2» с выходной мощностью от 1 до 2 Вт, длиной волны 670 нм в непрерывном режиме. Плотность энергии — 20–25 Дж/см², при мощности 2 Вт/см² и экспозиции 10–12 с. В контрольной группе санацию брюшины осуществляли 2 % раствором хлоргексидина до «чистых» вод. Морфологические исследования брюшины проводили на 1, 3, 5, 7-е сутки после начала лечения.

Результаты. При гистологическом исследовании до санации брюшной полости мы обнаруживали картину фибринозно-гнояного перитонита. Через сутки в основной группе гистологическая картина брюшины характеризовалась значительным уменьшением интенсивности экссудативного воспаления, активацией клеточных элементов системы мононуклеарных фагоцитов (макрофагов) с сохранением венозного полнокровия. Через 3 сут — интенсивность дисциркуляторных изменений в виде венозного полнокровия и отека стромы значительно снижается, нейтрофильная инфильтрация отсутствует, сохраняется активность клеточных элементов макрофагального ряда, отмечается увеличение количества тучных клеток. Спустя 5 сут после операции в строме выявляется очаговая метахромазия межклеточного вещества, свидетельствующая об активном синтезе гликозаминогликанов. Вид и морфологическая картина брюшины на 7-е сутки не отличалась от вида брюшины здоровых животных. В контрольной группе через 3 сут — выраженная диффузная нейтрофильная инфильтрация, венозное полнокровие и отек стромы. На 5-е сутки — значительное уменьшение фибринозного компонента воспаления с сохранением отека и венозного полнокровия стромы брюшины, уменьшением интенсивности нейтрофильной инфильтрации. К 7-м суткам сохраняется тенденция к уменьшению интенсивности нейтрофильной инфильтрации, отека и полнокровия стромы.

Заключение. Анализ результатов морфологических исследований экспериментальных животных с острым перитонитом убедительно свидетельствует о высокой эффективности проведения ФДТ для санации брюшной полости в сравнении с использованием 2 % антисептического раствора хлоргексидина, что является важным вкладом в совершенствование методов лечения острого перитонита.

В. М. Насек¹, О. С. Вишневская², И. В. Ребеко³, И. П. Локоть⁴, С. Шведмарк⁴, Р. Д. Зильберман¹

ПОГЛОЩЕНИЕ МАКРОФАГАМИ ПЕЧЕНИ КРОЛИКА НОВОГО ДОКСОРУБИЦИНСОДЕРЖАЩЕГО СОЕДИНЕНИЯ SA-033

¹ИБОХ НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²ГУ «Центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», Минск, Республика Беларусь

³ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им.

Н. Н. Александрова», Минск, Республика Беларусь

⁴Double Bond Pharmaceutical AB, Virdings Alle 32B, 75450, Uppsala, Sweden

Введение. Доксорубин (DOX) является одним из наиболее широко используемых цитостатических агентов при лечении различных форм рака. Терапевтическая эффективность DOX зависит от дозы и ограничена его высокой токсичностью. Основная задача при разработке новых доксорубинсодержащих соединений для лечения гепатоцеллюлярного рака (ГЦР) состоит в снижении побочных и сохранении противоопухолевых эффектов.

Цель исследования — оценить эффективность поглощения макрофагами печени доксорубинсодержащего соединения SA-033 (разработан Double Bond Pharmaceutical AB, Швеция) и описать характер его распределения в тканях печени кролика относительно эталонной фармацевтической субстанции DOX.

Материалы и методы. Кроликам-самцам соединение SA-033 и эталонный раствор DOX вводили внутривенно в эквивалентных дозах 5 мг/кг. Через 15 мин и 4 ч после инъекции животных подвергали мгновенной эвтаназии, извлекали сердце, печень и селезенку, готовили нативные срезы толщиной 10 мкм, в которых оценивали накопление SA-033 и DOX по аутофлуоресценции при длине волны возбуждения 488 нм (максимум эмиссии при длине волны 560–590 нм).

Результаты. Различий в накоплении 2 соединений в тканях сердца и селезенки не обнаружено. Однако макрофаги печени (клетки Купфера) поглощали SA-033 более активно по сравнению с фармакопейным DOX. Наиболее интенсивная аутофлуоресценция наблюдалась через 4 ч экспозиции. При системном введении SA-033 форма и размер макрофагов печени изменялись с увеличением экспозиции, однако их количество и интенсивность флуоресценции оставались неизменными в промежутке от 15 мин до 4 ч. Пик поглощения клетками Купфера обоих соединений наблюдался спустя 15 мин экспозиции и далее выходил на плато. Только введение SA-033 через 4 ч экспозиции вызывало изменение морфологии макрофагов: инициация протрузии филоподий и ламеллоподий, вариативность формы и склонность к агрегации.

Заключение. Соединение SA-033 по сравнению с фармакопейным DOX при внутривенном введении кроликам более интенсивно поглощается макрофагами печени. Таким образом, применение SA-033 при ГЦР потенциально может обеспечить высокий противоопухолевый эффект при сниженной дозировке, ограничивая тем самым системные побочные эффекты, включая доксорубининдуцированное повреждение сердца.