

*В.М. Ржезников<sup>1</sup>, Л.Е. Голубовская<sup>1</sup>, З.С. Смирнова<sup>2</sup>,  
В.Н. Толкачев<sup>2</sup>*

### СТЕРОИДНЫЕ ЦИТОСТАТИКИ С НЕОБЫЧНЫМ РАСПОЛОЖЕНИЕМ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ФРАГМЕНТА

<sup>1</sup>ФГБУ «ЭНЦ» Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

**Введение.** Стероидные цитостатики имеют длительную историю успешного применения при лечении таких распространенных онкологических заболеваний, как рак молочной и предстательной желез. При этом известны исключительно препараты с цитотоксическим заместителем, присоединенным к функциональным группам стероида, что снижает степень его связывания с рецепторными и транспортными белками.

**Цель исследования** — осуществить для поиска эффективных противоопухолевых препаратов с высоким сродством к рецептору, служащим вектором доставки препарата в гормоночувствительную опухоль, синтез стероидных цитостатиков с цитотоксическим заместителем в 11 $\alpha$ -положении эстра-1,3,5 (10) — триенов. В качестве цитотоксического заместителя использован хлорфенацил.

**Материалы и методы.** Синтез препаратов в рядах эстрона, эстрадиола и этинилэстрадиола проведен с использованием оригинального метода введения 11 $\alpha$ -гидроксигруппы в эстратриены (пат. РФ 1395639) и региоселективного дезацетилирования 3,11-диацетатов. Противоопухолевая активность препаратов изучалась на моделях аденокарциномы Ca-755 и меланомы В-16 мышей. Эстрогенную и антиэстрогенную активность оценивали в утеротропном тесте на мышах.

**Результаты.** Все синтезированные соединения показали высокую противоопухолевую активность с торможением роста опухоли (ТРО) выше 70 % на модели Ca-755. Наиболее активным оказалось соответствующее производное эстрадиола с ТРО 92 и 25 % излечением животных. Соединение обладает антиэстрогенным действием, ингибируя на 14 % эффект эстрона. Из анализа пространственной структуры этого препарата со свободными 3-С- и 17-С-гидроксильными группами следует, что объемистый хлорфенацил, содержащий фрагмент в 11 $\alpha$ -экваториальной конфигурации, не препятствует взаимодействию функциональных групп стероида с рецепторными и транспортными белками, что в немалой степени может объяснить высокую активность препарата. 17-пропионат указанного соединения обладал более выраженным антиэстрогенным действием, подавляя эффект эстрона на 30 %, однако уступал исходному соединению в противоопухолевой активности.

**Заключение.** Нетрадиционный подход к получению стероидных цитостатиков с цитотоксическим фрагментом, не присоединенным к функциональным группам стероида, имеет хорошие перспективы для создания эффективных противоопухолевых препаратов.

### СПОНТАННАЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННАЯ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННАЯ МАСТОЦИТОМА СОБАК В КАЧЕСТВЕ ДОКЛИНИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ СХЕМ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ С-КИТ ПОЗИТИВНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

*С.Е. Романова, М.Н. Якунина, Е.М. Трещалина*  
ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

**Введение.** Как и большинство с-КИТ положительных злокачественных новообразований человека мастоцитома собак имеет мутации в протоонкогене КИТ. У собак мутации в рецепторе КИТ встречаются примерно в 30 % опухолей тучных клеток. Большинство мутаций локализованы в 11-м экзоне (от 14 до 21 %), также мутации были обнаружены в 8-м и 9-м экзонах (примерно в 5 %). В остальных экзонах мутации редки. Новообразования с мутациями, локализованными в 11-м экзоне, в том числе местно-распространенная мастоцитома, как правило, проявляют чувствительность к иматинибу.

**Цель исследования** — оценка чувствительности к иматинибу с-КИТ позитивной спонтанной злокачественной мастоцитомы собак, предназначенной для доклинического изучения новых схем комбинированной терапии с алкилирующими агентами.

**Материалы и методы.** В исследовании участвовали 25 собак с-КИТ позитивной спонтанной злокачественной местно-распространенной мастоцитомой II–III степени, поступивших на лечение в клинику экспериментальной терапии животных ООО «Биоконтроль» в период с 2009 по 2015 гг. Животных делили на 2 группы: 1) экспериментальная ( $n = 14$ ) получала иматиниб (гливек) перорально в дозе 10 мг/кг 1 раз в день в течение 1–3 мес; 2) контрольная ( $n = 11$ ) не получала специфического лечения. Обследование, лечение и оценку результатов проводили в соответствии с международными критериями (стандарты ВОЗ). Средний возраст животных составил 7,95 лет (от 3 до 13 лет), в исследование вошли 45,5 % самок ( $n = 11$ ) и 54,5 % самцов ( $n = 14$ ). Оценка отдаленных результатов лечения включала определение показателей общей выживаемости, которую рассчитывали от даты начала лечения до смерти или до даты последней явки пациента. Все пациенты после окончания лечения находились под динамическим наблюдением, оценку результатов выполняли через 1, 3 и 6 мес. Различия между группами считали достоверными при  $p \leq 0,05$ . Побочные эффекты оценивали согласно критериям, принятым в 2011 г. ветеринарным онкологическим сообществом (VCOG-CTCAE — veterinary cooperative oncology group — common terminology criteria for adverse event).

**Результаты.** У всех животных (100 %) контрольной группы отмечено прогрессирование заболевания, средняя продолжительность жизни (СПЖ) составила 47 дней, медиана продолжительности жизни (МПЖ) — 54,91 дней. В экспериментальной группе объективный эффект (ЧР, единичные ПР) составил 79 %, СПЖ = 365 дней ( $p < 0,05$ ) МПЖ = 192,5 дней ( $p < 0,05$ ), средняя продолжительность безрецидивного периода — 171 день, медиана времени до прогрессирования — 138 дней, пролонгирование жизни

$\geq 12$  мес — у 43 % животных. Полных ремиссий не выявлено. Побочные эффекты лечения отмечены у 29 % животных экспериментальной группы ( $n = 4$ ) в виде легких желудочно-кишечных расстройств (диарея и рвота).

**Заключение.** Спонтанная злокачественная местно-распространенная с-KIT-позитивная мастоцитомы II–III степени у собак проявляет высокую чувствительность к таргетной терапии иматинибом (гливек) со значимым увеличением продолжительности жизни без лимитирующих побочных эффектов. Отсутствие полных ремиссий у подавляющего числа собак открывает возможность использования этой модели на этапе доклинического изучения новых комбинированных методов лечения данной патологии на основе иматиниба, в частности с алкилирующими агентами.

*А.А. Рудакова, А.В. Пономарёв, О.С. Бурова,  
Л.Ф. Морозова, В.А. Мисюрин, М.А. Барышникова*  
**ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ЛИГАНДОВ  
БЕЛКА PD1 В КЛЕТКАХ ЛИНИЙ МЕЛАНОМЫ  
ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ СУБСТАНЦИИ  
И ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ  
АРАНОЗЫ**

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

**Введение.** Белки PDL1 и PDL2 экспонированы на поверхности опухолевых клеток. В случае высокого уровня их экспрессии опухоль способна ингибировать T-клеточный ответ.

**Цель исследования** — сравнить экспрессию генов, кодирующих лиганды PDL1 и PDL2 рецептора PD-1 в клеточных линиях меланомы человека после воздействия субстанции и липосомальной лекарственной формы аранозы.

**Материалы и методы.** Исследования проводили на 9 клеточных линиях меланомы человека: mel Bgf, mel Cher, mel Gus, mel H, mel II, mel Is, mel Kor, mel Me и mel Mtp. 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 PDL1 и PDL2. Полученные данные анализировали при помощи критерия Уилкоксона (программа Past ver. 3).

**Результаты.** После инкубации с липосомальной аранозой уровень экспрессии гена *PDL1* в клетках 5 линий (mel Bgf, mel Cher, mel Gus, mel H и mel II) значительно ниже, чем после инкубации с субстанцией аранозы ( $p = 0,0431$ ). В этих же линиях уровень экспрессии гена *PDL2* также более высокий после воздействия на них субстанции аранозы ( $p = 0,0412$ ). В 4 линиях (mel Is, mel Kor, mel Me и mel Mtp) уровень экспрессии *PDL1* не различался ( $p = 0,1088$ ). Уровень экспрессии гена *PDL2* в линиях mel Me и mel Mtp также сопоставим. В линиях mel Is и mel Kor уровень экспрессии гена *PDL2* не определен.

**Заключение.** В ряде клеточных линий (mel Bgf, mel Cher, mel Gus, mel H и mel II) липосомальная араноза зна-

чительно снижала уровень экспрессии генов *PDL1* и *PDL2*. В других линиях (mel Is, mel Kor, mel Me и mel Mtp) влияние лекарственной формы аранозы не выявлено, что может быть вызвано различиями клеточных линий между собой по молекулярным характеристикам. Липосомальная араноза может быть высокоэффективным противоопухолевым средством, но для его применения необходимо выработать критерии назначения.

*И.В. Руденкова, Л.Н. Николаевич*

**ВЛИЯНИЕ ФИТОЛЕКТИНОВ НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ  
И АПОПТОЗ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК IN VITRO**

*Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

**Введение.** Онкологические заболевания занимают 2-е место в Беларуси среди неинфекционных заболеваний. Это тяжелая патология, лечение которой плохо переносится пациентами. Одним из актуальных направлений является поиск противоопухолевых свойств лектинов растительного происхождения, отдельные представители которых уже применяются в качестве альтернативной терапии.

**Цель исследования** — изучить антипролиферативные и апоптотические эффекты фитолектинов на опухолевые клетки *in vitro*.

**Материалы и методы.** Исследования проводились на клеточных линиях HeLa (карцинома шейки матки), С6 (глиома крысы), Э138 (эпендимома человека) и Э138к/к (клоногенные клетки эпендимомы человека). Лектин канавалии мечевидной (ConA) и лектин чечевицы обыкновенной (LCL) (Sigma, США) вводились в монослойную культуру клеток в концентрации 20 и 40 мкг/мл. Спустя 24 ч клетки окрашивали трипановым синим и подсчитывали их количество в камере Горяева. Оценивали апоптотический индекс (АИ) и индекс пролиферации клеток (ИП). Статистическую обработку данных проводили при помощи Microsoft Excel и программного пакета для статистического анализа Statistica 6.0. Результаты считали достоверными при уровне значимости  $p \leq 0,05$  (по критерию Манна-Уитни).

**Результаты.** При воздействии Con A в дозах 20 и 40 мкг/мл показатель ИП достоверно уменьшался в популяциях клеток С6, Э138 и Э138к/к по сравнению с контролем. На опухолевых клетках линии HeLa показано снижение ( $p < 0,05$ ) уровня пролиферации только при концентрации Con A 20 мкг/мл и увеличение апоптотического индекса по сравнению с контролем. Аналогичные результаты выявлены при воздействии лектина чечевицы в концентрации 20 и 40 мкг/мл на опухолевые клетки линии HeLa и Э138.

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о чувствительности опухолевых клеток HeLa, С6, Э138 и Э138к/к к воздействию лектинов Con A и LCL. Опухолевые клетки карциномы шейки матки (HeLa) и эпендимомы человека (Э138) различаются наличием рецепторов, содержащих D-маннозу, связываемую лектином чечевицы (LCL) и канавалии мечевидной (ConA). Именно поэтому представляется перспективным дальнейшее изучение фитолектинов в качестве возможных кандидатов противоопухолевых препаратов растительного происхождения.