

*А.Ю. Рыбкин<sup>1</sup>, А.Ю. Белик<sup>1</sup>, Н.С. Горячев<sup>1</sup>, П.А. Михайлов<sup>2</sup>, И.И. Пархоменко<sup>1</sup>, Н.В. Филатова<sup>1</sup>, А.А. Терентьев<sup>1</sup>, О.А. Краевая<sup>1</sup>, П.А. Трошин<sup>1</sup>, А.И. Котельников<sup>1</sup>*

#### **ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ РЯДА ВОДОРАСТВОРИМЫХ ДИАД ФУЛЛЕРЕН-ХЛОРИН**

<sup>1</sup>Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка, Московская область, Россия;

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

**Введение.** Одним из путей создания новых высокоэффективных препаратов для фотодинамической терапии (ФДТ) является присоединение к фуллерену C60 красителя, эффективно поглощающего в красной области спектра. Диады фуллерен-порфирин и фуллерен-хлорин часто упоминаются в литературе, но, как правило, они нерастворимы в воде и главным образом исследуются как компоненты для фотовольтаических ячеек, и только небольшое число работ посвящено созданию диад фуллерен-хлорин для ФДТ. В рамках направленного поиска новых фотосенсибилизаторов (ФС) в ИПХФ РАН синтезирован ряд водорастворимых ковалентных диад фуллерен-хлорин с различной длиной спейсера.

**Цель исследования** — определить фотохимическую и фотодинамическую активность ряда водорастворимых диад фуллерен-хлорин.

**Материалы и методы.** Водорастворимые диады и исходные полизамещенные производные фуллерена синтезированы в ИПХФ РАН, структура соединений доказана методами ИК- и УФ-спектроскопии, спектроскопии ядерного магнитного резонанса на ядрах <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C и электроспрей масс-спектрометрии. Фотодинамическая активность соединений оценивалась на культуре клеток HeLa по методу МТТ, а также в модельной системе с помощью красителя НСТ.

**Результаты.** Синтезированные диады фуллерен-хлорин обладают высокой растворимостью в воде (до концентраций ~ 0.01 М) и ярко выраженным пиком поглощения в области 670 нм. Флуоресценция хлорина в составе всех исследуемых диад сильно потушена (от 10 до 100 раз). Наибольшей фотодинамической активностью обладает диада фуллерен-хлорин (1), активность которой превышает активность исходного производного хлорина более чем в 4,5 раза.

**Заключение.** Экспериментально показано, что диада фуллерен-хлорин (1) обладает растворимостью в воде, выраженным поглощением в красной области спектра и высокой фотодинамической активностью, что позволяет рекомендовать данную структуру для дальнейшего исследования в качестве потенциального препарата ФС для ФДТ.

*Авторы выражают благодарность проф. Андрею Федоровичу Миронову (МИТХТ) за любезно предоставленные производные хлорина.*

*Исследования поддержаны Программой Президиума РАН № 1 «Наноструктуры: физика, химия, биология, основы технологий» и грантом РФФИ № 16-34-01156 мол\_а.*

*А.А. Сальник, А.С. Мкртчян, Л.А. Кесаева, И.Н. Солдатова, Е.А. Османов, А.В. Мисюрин*

#### **ЗНАЧЕНИЕ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЕ**

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

**Введение.** Множественная миелома (ММ) — злокачественное В-клеточное лимфопролиферативное заболевание с клональной пролиферацией атипичных плазматических клеток в костном мозге, реже — в экстрамедуллярных очагах, синтезирующих моноклональные иммуноглобулины или легкие цепи. Для диагностики ММ важными являются результаты цитогенетического и молекулярно-цитогенетического исследований.

**Цель исследования** — изучение метафазных пластинок при помощи стандартного цитогенетического исследования и FISH-анализа на наличие хромосомных aberrаций; а также сравнение полученных результатов.

**Материалы и методы.** В нашей работе были проведены цитогенетические и молекулярно-цитогенетические исследования на 50 пациентах.

**Результаты.** У 14 пациентов из 50 обнаружены различные молекулярно-цитогенетические нарушения: транслокация с участием гена IGH у 6 пациентов; трисомия участка (q12-q23) хромосомы 11 у 3 больных, участка (q21) хромосомы 1 у 2 пациентов, участка (q24.1) хромосомы 8 у 1 больного, гена IGH у 1 пациента, делеция гена IGH у 2 больных, участка (p13) хромосомы 17 у 1 пациента; делеция участка (q14) хромосомы 13 у 2 участников; делеция участка (p13) хромосомы 17 у 1 больного — при том, что цитогенетическое исследование не показало хромосомных нарушений.

**Заключение.** Полученные результаты позволяют сделать вывод, что одного стандартного цитогенетического исследования при диагностике ММ недостаточно. Из-за низкой митотической активности плазматических клеток по стандартной методике культивирования образцов очень сложно поймать плазматические клетки на необходимой стадии деления — метафазе. Поэтому проведение FISH-исследования для пациентов с ММ является одним из важных анализов для прогнозирования течения болезни.

*Р.Б. Самсонов<sup>1,2</sup>, Ю.В. Чебуркин<sup>1,2</sup>, А.В. Смирнова<sup>3</sup>, Г.Г. Варванина<sup>3</sup>, Л.В. Винокурова<sup>3</sup>, Е.А. Дубцова<sup>3</sup>, М.А. Агафонов<sup>3</sup>, Д.С. Бордин<sup>3</sup>, А.В. Малек<sup>1,2</sup>*

#### **АНАЛИЗ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ЭКЗОСОМ — НОВЫЙ МЕТОД РАННЕЙ И ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

<sup>1</sup>ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>ООО «Онко-система», Москва, Россия;

<sup>3</sup>ГБУЗ МКНЦ ДЗМ, Москва, Россия

**Введение.** В 85–90 % случаев диагноз рак поджелудочной железы (РПЖ) устанавливают поздно; показатели 5-летней выживаемости составляют 2–9 %. В основе исследования лежит гипотеза о возможности детекции в крови мембранных микровезикул — экзосом (ЭС), секретируемых клетками РПЖ.

**Цель исследования** — поиск экзосомальных маркеров РПЖ и разработка нового метода скрининга и ранней диагностики.

**Материалы и методы.** ЭС были выделены из образцов плазмы пациентов с РПЖ и плазмы здоровых доноров методом дифференциального ультрацентрифугирования. Верификация структурных и биохимических особенностей (экспрессия экзосомальных маркеров CD9, CD81) проводилась с помощью методов корреляционной спектроскопии, атомно-силовой микроскопии и вестерн-блоттинга. Потенциальные белковые маркеры выбраны на основе анализа базы данных ExoCarta. Оценка экспрессии белковых маркеров ЭС проведена методом проточной цитометрии. Для оценки профиля экспрессии 179 молекул экзосомальных микроРНК использован «пул» образцов экзосомальной РНК, анализ проведен методом ОТ-ПЦР (Exosome focused miRNA panel/Exiqon).

**Результаты.** Анализ баз данных позволил выделить ряд поверхностных экзосомальных белков — потенциальных маркеров РПЖ: TM9SF4, AXL, EpCAM, CD44v6, Glypican1. Уровень экспрессии EpCAM на поверхности ЭС плазмы статистически значимо отличался в группах РПЖ и контроля. Для 18 (из 179) молекул микроРНК показано значимое отличие уровня экспрессии в тестируемых группах. При валидации результатов по индивидуальным молекулам подтверждено статистически значимое повышение уровня экспрессии микроРНК-155 (miR-155) в ЭС пациентов с РПЖ относительно здоровых доноров. В результате исследования установлена разница уровня экспрессии молекулы клеточной адгезии (EpCAM) и микроРНК-155 в исследуемых группах пациентов с РПЖ и здоровых доноров.

**Заключение.** ЭС, секретируемые клетками РПЖ и циркулирующие в плазме, представляют собой естественные и биохимически стабильные комплексные онкомаркеры, диагностический потенциал которых определяется возможностью изоляции из плазмы интактных ЭС и параллельного анализа экзосомальных маркеров различной природы.

*Е.В. Санарова<sup>1</sup>, Си Чжан<sup>2</sup>, А.В. Ланцова<sup>1</sup>, О.Л. Орлова<sup>1</sup>, А.П. Полозкова<sup>1</sup>, Н.А. Оборотова<sup>1,2</sup>, З.С. Шпрах<sup>1</sup>*

**ВЫБОР КРИТЕРИЕВ ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ОТЕЧЕСТВЕННОГО АНАЛОГА ГИПОТАЛАМИЧЕСКОГО ГОРМОНА СОМАТОСТАТИНА**

<sup>1</sup>ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия

**Введение.** В лаборатории разработки лекарственных форм ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России разработана модель липосомальной лекарственной формы (ЛЛФ) отечественного аналога гипоталамического гормона соматостатина (АГГС), содержащая в качестве основных компонентов липосомального бислоя яичный лецитин и полиэтиленгликоль-2000-дистеароилфосфатидил-этанолламин в молярных соотношениях 72/1 и в качестве крио-

протектора — сахарозу. Доказана эффективность данной модельной ЛЛФ на перевиваемой опухоли мышей — аденокарциноме молочной железы Ca-755.

**Цель исследования** — выбрать критерии для оценки качества разработанной ранее модели ЛЛФ АГГС.

**Материалы и методы.** АГГС (ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России), яичный лецитин (Lipoid, Германия), полиэтиленгликоль-2000-дистеароилфосфатидил-этанолламин (Lipoid, Германия), сахароза («Химмед», Россия). Спектрофотометрия в УФ-области, динамическая лазерная спектроскопия, потенциометрия, гравиметрия.

**Результаты.** На основании статей государственной фармакопеи и ранее проведенных аналитических исследований критериями для оценки качества ЛЛФ АГГС выбраны: 1) описание внешнего вида — сухая пористая масса светло-желтого цвета; 2) подлинность — электронный спектр поглощения при длине волны  $282 \pm 3$  нм; 3) средний диаметр липосом — 130–170 нм; 4) рН липосомальной дисперсии — 6,8–7,4; 5) концентрация препарата в липосомальной дисперсии — 0,90–1,10 мг/мл; 6) потеря в массе при высушивании — не более 3 %; 7) средняя масса содержимого флакона — 0,674–0,734. Для оценки правильности выбранных показателей качества нарабатывали 3 серии ЛЛФ, которые анализировали по всем предложенным параметрам. В результате показано, что все серии соответствовали заявленным критериям качества, что позволило заложить их на хранение для проведения дальнейших химико-фармацевтических и биологических исследований.

**Заключение.** Выбраны критерии для оценки качества ЛЛФ АГГС, которые будут использованы в дальнейшем для создания фармакопейной статьи предприятия.

*Работа поддержана стипендией Президента РФ на 2015–2017 гг.*

*К.Н. Саунина<sup>1</sup>, Н.Н. Гундилович<sup>2</sup>, Л.Н. Николаевич<sup>1</sup>, Ю.Г. Павлюкевич<sup>2</sup>*

**РАЗДЕЛЕНИЕ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ГЛИОМЫ КРЫСЫ С6 НА СУБПОПУЛЯЦИИ С ПОМОЩЬЮ КВАРЦЕВЫХ ФИЛЬТРОВ И ОЦЕНКА ИХ ПРОЛИФЕРАЦИИ**

<sup>1</sup>Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь;

<sup>2</sup>Белорусский государственный технологический университет, Минск, Республика Беларусь

**Введение.** Одним из актуальных научных подходов в химиотерапии опухолей головного мозга является разделение гетерогенных популяций опухолевых клеток на субпопуляции и оценка их чувствительности к противоопухолевым препаратам.

**Цель исследования** — разработать тест-систему для фракционирования субпопуляций опухолевых клеток головного мозга с использованием кварцевых фильтров.

**Материалы и методы.** Перевиваемая линия клеток глиомы крысы С6. Исходная концентрация гетерогенной популяции — 460000 клеток/мл (контроль). Фракционирование клеток С6 проводили последовательно: 1-й этап — исходную гетерогенную популяцию клеток С6 пропускали через стерильный кварцевый фильтр с диаметром