

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. Санарова¹, Си Чжан², А.В. Ланцова¹, О.Л. Орлова¹, А.П. Полозкова¹, Н.А. Оборотова^{1,2}, З.С. Шпрах¹

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

¹ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия;

²ГБОУ 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-этанол-амин 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-этанол-амин (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 ± 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. Саунина¹, Н.Н. Гундилович², Л.Н. Николаевич¹, Ю.Г. Павлюкевич²

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

¹Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь;

²Белорусский 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

пор 20–40 мкм (1-я фракция клеток); 2-й этап — 1-ю фракцию клеток пропускали через фильтр с диаметром пор 10 мкм (2-я фракция); 3-й этап — 2-ю фракцию пропускали через фильтр с диаметром пор 8 мкм (3-я фракция). Полученные фракции клеток С6 вносили в лунки 12-луночного планшета объемом 1 мл и инкубировали в СО₂ инкубаторе. Спустя 72 ч клетки снимали 0,25 % трипсином и подсчитывали в камере Горяева. Во всех фракциях рассчитывали индекс пролиферации: число клеток окончательного роста/число клеток изначально посеянных 100 %. Статистический анализ данных проводили с помощью программ MS Excel и Statistica 6.0.

Результаты. Перевиваемая линия клеток глиомы крысы С6 характеризуется 85–90 % астроглиальных клеток (протоплазматические и волокнистые астроциты) и около 10 % олигодендроцитов. Протоплазматические астроциты имеют относительно крупные размеры (15–25 мкм) и многочисленные ветвистые отростки. У волокнистых астроцитов небольшое тело (7–11 мкм) и длинные малоразветвленные отростки. Олигодендроциты — мелкие (размеры тела около 5–6 мкм) клетки со слабоветвленными, относительно короткими и немногочисленными отростками. Результаты исследований показали, что пропускание клеток через кварцевый фильтр не вызывает их гибели. Субпопуляции клеток во фракциях различаются не только морфологией клеток, но и пролиферацией. Первая фракция протоплазматических астроцитов размером в диапазоне 20–40 мкм характеризуется высоким индексом пролиферации по сравнению с контролем. Пролiferация волокнистых астроцитов во 2-й (10 мкм) и олигодендроцитов в 3-й (8 мкм) фракциях не отличаются от контрольного уровня.

Заключение. Разработана новая тест-система, включающая кварцевые фильтры с различным диаметром пор и позволяющая выделить из гетерогенной популяции субпопуляции опухолевых клеток по размеру. Тест-система не является цитотоксичной и может использоваться для скрининга противоопухолевых средств с целью дифференцированного подхода в выборе тактики лечения опухолей головного мозга.

Р.Б. Сейдахметова, М.К. Смагулов, Ж.С. Нурмаганбетов, А.Ж. Турмухамбетов, С.М. Адекенов

ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ АЛКАЛОИДОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ *IN VITRO*

АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», Караганда, Казахстан

Введение. В последние годы эффективные цитостатики на основе природных соединений находят все более широкое применение в современной медицине. Особые надежды возлагаются на природные соединения из растений, действие которых направлено на новые клеточные мишени для решения одной из основных проблем современной клинической онкологии — множественной лекарственной резистентности опухолей. Особое внимание среди них вызывают растительные алкалоиды. Механизмы действия алкалоидов и их производных на опухолевую клетку отличаются от известных противоопухолевых цитотоксических препаратов. Этим фактом можно объяснить высокую эффективность алкалоидов при действии на от-

дельные виды опухоли, что открывает перспективы для создания нового поколения химиотерапевтических средств.

Цель исследования — изучить цитотоксичность образцов алкалоидов и их производных (гармин, гидрохлорид гармина, 8-ацетилгармина, 2,3,4-триметоксихалконпроизводное гармина, 2,4-диметоксихалконпроизводное гармина, 2-*F*-халконпроизводное гармина, стахидрин, эхинопсин, делькозин) на клеточных линиях с применением МТТ-теста.

Материалы и методы. Исследования проводили на клеточной линии HepG2 и на перевиваемой клеточной культуре гепатомы линии НТС, полученной из банка клеточных культур ФГБУН Института цитологии РАН (Санкт-Петербург, Россия). Для оценки цитотоксического действия исследуемых веществ на монослойной клеточной культуре НТС *in vitro* использовали МТТ-тест. Принцип метода основан на способности живых клеток восстанавливать с помощью ферментов дегидрогеназ митохондриальной дыхательной цепи желтые соли 3-[4,5-диметилтиазол-2-ил] —2,5-дифенилтетразолиум бромид (МТТ) до нерастворимых в воде темно-фиолетовых гранул формазана. После растворения кристаллы формазана дают окрашивание, определяемое спектрофотометрически.

Результаты. В концентрации 5,0 мкг/мл цитотоксичность на культуру клеток HepG2 проявили следующие образцы алкалоидов: гидрохлорид гармина, 8-ацетилгармина, 2,3,4-триметоксихалконпроизводное гармина, 2,4-диметоксихалконпроизводное гармина, 2-*F*-халконпроизводное гармина, стахидрин, эхинопсин, делькозин. Установлено, что все исследуемые образцы алкалоидов в концентрациях 10 мкг/мл оказывали цитотоксическое действие на культуру клеток гепатомы линии НТС.

Заключение. Таким образом, изученные нами алкалоиды и их производные проявляют цитотоксическое действие на культуры клеток HepG2 и НТС.

Р.Б. Сейдахметова, М.К. Смагулов, А.С. Кишкентаева, Ж.Р. Шаймерденова, Г.А. Атажанова, С.М. Адекенов

ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ СЕСКВИТЕРПЕНОВЫХ ЛАКТОНОВ НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК HEPG2

АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», Караганда, Казахстан

Введение. Направленный поиск новых биологически активных соединений предусматривает прежде всего разработку молекул, способных активно воздействовать на патологические клетки организма и их рост. Перспективным и потенциальным источником новых лекарственных веществ считаются природные соединения, в частности сесквитерпеновые лактоны.

Цель исследования — определить цитотоксичность 10 образцов сесквитерпеновых лактонов (β -эпоксиарглабин, цитизинил-эпоксиарглабин, анабазинил-эпоксиарглабин, эпоксиарголид, 3β -гидроксиархалин, анабазиниларголид, эстафиатин, 4-пиридинпроизводное арглабина, 3-пиридинпроизводное арглабина, 3-пиридин-6-метоксипроизводное гроссгемина) в концентрациях 3,0 и 5,0 мкг/мл на культуре клеток HepG2.