

Д.С. Третьякова, Е.Л. Водовозова

ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРЫ СТАБИЛИЗИРУЮЩИХ КОМПОНЕНТОВ НА УСТОЙЧИВОСТЬ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЛИПОСОМ, НЕСУЩИХ В БИСЛОЕ ЛИПОФИЛЬНОЕ ПРОЛЕКАРСТВО МЕЛФАЛАНА

ФГБУН Институт биоорганической химии им. акад.

М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

Введение. Липосомы применяют для доставки лекарственных молекул к пораженным органам и тканям. Они наиболее био- и гемосовместимы среди других систем доставки, но, как и все наночастицы, при попадании в кровотоки липосомы покрываются белковой короной. Ассоциированные белки могут привести к дестабилизации липосом, изменению их биораспределения, узнаванию иммунной системой и выведению из кровотока. Для защиты поверхности наночастицы покрывают высокогидратируемыми соединениями.

Цель исследования — установить влияние структуры стабилизирующих компонентов бислоя, призванных уменьшать связывание белков, на устойчивость липосом в сыворотке.

Материалы и методы. Методом экструзии через поры 100 нм готовили 2 серии липосом, несущих в бислое липофильное пролекарство мелфалана и защитные молекулы — фосфатидилинозит (PI) 10 %, ганглиозид GM12 и 10 %, СООН-пептидолипид 2 и 10 %, ПЭГ-липид 2 и 10 % — в матрице из яичного фосфатидилхолина. В 1-й серии во внутренний водный объем включали раствор кальцеина в самозатухающей концентрации 80 мМ (после экструзии освобождались от невключившегося кальцеина геле-фильтрацией на колонке с Sephadex G-50). Вторая серия содержала FRET-пару (fluorescence resonance energy transfer) флуоресцентных фосфолипидных зондов (TMB-BSNB) в бислое. Аликвоты липосом инкубировали в буфере PBS и 80 % сыворотке в течение суток. В различные промежутки времени регистрировали сигнал флуоресценции (кальцеин: $\lambda_{ex} = 485$ нм, $\lambda_{em} = 517$ нм; TMB-BSNB: $\lambda_{ex} = 470$ нм, $\lambda_{em} = 505$ нм). Сигнал нормировали на максимум разгорания образца при добавлении детергента TritonX100.

Результаты. Липосомы с PI показали высокую стабильность (вытекание кальцеина < 5 % от максимального) в первые 5 ч инкубации, а липосомы с 2 % GM1 или 2 % СООН-пептидолипида — в течение всего времени инкубации. При повышении содержания GM1 или СООН-пептидолипида до 10 % после изначального резкого вытекания кальцеина (более 50 %) наблюдался выход на плато. Вероятная причина — дестабилизация бислоя за счет электростатических взаимодействий белков с жестким отрицательно заряженным каркасом на поверхности липосом и образование в бислое микроканалов в ходе перераспределения электронной плотности и латеральной диффузии липидов. Тем не менее, по данным FRET, включение именно 10 % пептидолипида приводило к наименьшему связыванию белков. Включение ПЭГ-липидов уменьшало связывание белков, однако не увеличивало стабильности бислоя: последовательные всплески и затухания флуоресценции кальцеина могут свидетельствовать о выходе молекул ПЭГ-липидов из жидкого бислоя липосом и формировании отдельных мицелл с компонентами бислоя.

Заключение. В случае включения в бислое из яичного фосфатидилхолина пролекарства мелфалана для стабилизации липосом можно использовать PI, GM1 и СООН-пептидолипид, причем последний — наилучшая защита от опсонизации.

Работа поддержана грантом РФФИ № 16-04-01585.

И.Д. Трещалин¹, В.А. Голибродо¹, М.И. Трещалин¹, Н.В. Еремкин¹, Е.В. Возняковская¹, Т.Б. Переверзева¹, С.А. Цуркан², Э.Р. Переверзева¹

ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА АИМПИЛА В ХРОНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА КРЫСАХ

¹ФГБНУ «НИИНА им. Г.Ф. Гаузе», Москва, Россия;

²ООО «ФНЦ «ФармАксесс», Москва, Россия

Введение. Высокая специфичность альфафетопротеина (АФП) по отношению к опухолевым клеткам, несущим рецепторы к АФП, послужила основой для его использования в качестве средства направленной доставки противоопухолевых лекарств. Препарат аимпила (А), разработанный в ООО «ФНЦ «ФармАксесс», представляет собой нековалентный комплекс свиного АФП с атрактилозидом — гликозидом, ингибирующим транслоказу адениновых нуклеотидов и вызывающим тем самым апоптоз злокачественных клеток. В экспериментах на мышах с перевиваемыми опухолями показана высокая противоопухолевая активность данной фармакологической композиции. Для продвижения препарата необходимо изучение его токсических свойств на различных моделях.

Цель исследования — оценка общетоксических свойств препарата А при хроническом введении крысам.

Материалы и методы. В эксперименте использовали 60 беспородных крыс, самцов и самок. Препарат в лекарственной форме в виде взвеси капсульной массы в крахмальном геле вводили перорально ежедневно в течение 30 дней в разовых дозах, составляющих 1 (0,1 мг/кг) и 10 (1 мг/кг) терапевтических доз (ТД). ТД для крыс рассчитана исходя из эффективной ТД для мышей с использованием коэффициента поверхности тела. На 1-е и 30-е сутки по окончании курса введений животных подвергали эвтаназии. Клинические и патоморфологические исследования проводили в соответствии с Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств.

Результаты. При применении А в 1 ТД токсических свойств препарата не выявлено. При 10-кратном превышении ТД обнаружены обратимые изменения структуры миокарда. Гепатотоксичность А проявилась как клинически (повышение активности АСТ), так и морфологически только по окончании курса введений и была обратимой. При патоморфологическом исследовании найдены повреждения канальцевой и клубочковой систем почек. При этом изменения структуры извитых канальцев были полностью обратимыми, тогда как повреждение отдельных клубочков завершалось рубцеванием. Признаки панкреатоксического действия А выразились в нарушении гемодинамики в островках Лангерганса. Повреждения в экзокринной части железы найдены только у одного животного через месяц после окончания курса введений препарата. Выявленные изменения не зависели от пола животных.

Заключение. Применение А в терапевтической дозе не оказывает влияния на структуру и функцию основных органов и систем организма крыс. При значительном превышении терапевтической дозы возможно проявление кардио-, гепато-, панкреа- и нефротоксичности. Дозозависимый и обратимый характер выявленных токсических эффектов позволяет заключить, что препарат является перспективным для его дальнейшего изучения.

*И.Д. Трещалин, Н.В. Ерёмкин, М.И. Трещалин,
Э.Р. Переверзева*

ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ КОМПОЗИЦИИ АНТРАФУРАНДИОНА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ПУТЯХ ВВЕДЕНИЯ

ФГБНУ «НИИНА им. Г.Ф. Гаузе», Москва, Россия

Введение. В настоящее время понимание молекулярно-биологических основ физиологии злокачественной клетки и механизмов развития множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) позволяет осуществлять направленный синтез противоопухолевых препаратов с определенными свойствами. В НИИНА им. Г.Ф. Гаузе разработан оригинальный мультитаргетный противоопухолевый препарат антрафурандион (гетероциклический аналог 5,12-нафтаценхинона), активный в отношении опухолевых клеток с генетически детерминированными механизмами МЛУ и проявивший высокую противоопухолевую активность в экспериментах на мышах с перевиваемыми опухолями. Созданная на его основе фармацевтическая композиция антрафурандион (ФКА) хорошо растворима в физиологически приемлемых растворителях. Для выбора оптимального пути введения ФКА необходима оценка ее токсических свойств.

Цель исследования — сравнительный анализ параметров острой токсичности ФКА при различных путях введения.

Материалы и методы. Изучение острой токсичности ФКА проводили на мышах BDF1 и крысах Wistar. ФКА растворяли в 5 % растворе глюкозы и вводили животным внутривенно (в/в), внутрибрюшинно (в/б) или перорально (п/о) в различных дозах. Продолжительность наблюдения составляла 30 дней после последнего случая гибели животного. Ежедневно регистрировали количество павших животных, срок гибели, оценивали клиническую картину гибели. Дозы, характеризующие токсичность, рассчитывали по методу Литчфилда и Уилкоксона с применением компьютерной программы StatPlus 2006 professional.

Результаты. Показано, что для мышей при в/в введении ЛД₅₀ составляет 5,9, МПД — 3,6 мг/кг, при в/б — ЛД₅₀—52,5, МПД—39,4 мг/кг, при п/о — ЛД₅₀—306,7, МПД — 128,9 мг/кг. Для крыс при в/в введении ЛД₅₀—17,1, МПД — 15,2 мг/кг, при в/б — ЛД₅₀—64,6, МПД — 47,6 мг/кг и при п/о — ЛД₅₀—353,6, МПД — 171,7 мг/кг. В/в введение ФКА в высоких дозах приводит к гибели животных в течение первых 3 мин, в/б — в период от 1 ч до 1 сут. Характер гибели и результаты вскрытия павших животных позволяют считать, что причиной смерти в обоих случаях является сердечно-сосудистая недостаточность, вызванная нейротоксическим действием препарата.

При этом при в/в введении уровень переносимых доз настолько мал, что не позволяет достичь какого-либо противоопухолевого эффекта. В отличие от в/в и в/б путей введения, при п/о применении ФКА гибель животных наступает, в основном, на 3–5-е сутки при явлениях кишечной токсичности и 7–10-е сутки на фоне гематологической токсичности. Многократное снижение параметров острой токсичности ФКА при п/о пути введения по сравнению с двумя другими позволяет применять препарат в широком диапазоне доз.

Заключение. В отличие от в/б и в/в, п/о путь введения для ФКА предпочтителен, так как создает возможность для поиска оптимальных эффективных доз и режимов применения.

*Е.В. Трифонова, А.К. Голенков, А.В. Кедров, Т.А. Митина,
Е.В. Катаева, К.А. Белоусов*

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИНТРАТЕКАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ЦИТОЗАРОМ ПО ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ *IN VITRO* У БОЛЬНЫХ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ, ОСЛОЖНЕННОЙ ВНУТРИСПИНАЛЬНЫМ ОПУХОЛЕВЫМ РОСТОМ

ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия

Введение. Неврологические осложнения при множественной миеломе (ММ), проявляющиеся интенсивными корешковыми болями и нижними парезами или параличами, относятся к закономерным признакам болезни и являются достаточно трудной и актуальной проблемой для клинической гематологии. Они в значительной степени ухудшают качество жизни больных ММ и утяжеляют прогноз заболевания.

Цель исследования — совершенствование противоопухолевой химиотерапии осложненных форм ММ на основе детерминированного принципа по результатам чувствительности опухолевых плазмочитов костного мозга *in vitro* к цитостатическим препаратам с использованием DISC-метода.

Материалы и методы. Для оценки клинической эффективности эндолумбально вводимого цитозара у пациентов с ММ, осложненной опухолевой миелорадикулопатией, использовали когортное исследование, направленное на подтверждение гипотезы об эффективности интратекальных введений цитозара при данном варианте течения ММ. Исследованы 50 больных ММ, из них у 26 диагноз установлен впервые, 10 пациентов рефрактерны к проводимым противоопухолевым курсам полихимиотерапии, 14 больных находились в режиме индукционного лечения. У 19 из 50 пациентов ММ осложнилась внутриспинальным опухолевым ростом. Определение чувствительности опухолевых плазмочитов костного мозга к противоопухолевым препаратам проводилось DISC-методом с использованием клинически эквивалентных скрининговых концентраций цитостатических препаратов.

Результаты. Анализ полученных данных показал, что 75,8 % больных ММ чувствительны к цитозару. 19 пациентов ММ, осложненной внутриспинальным опухолевым ростом, были разделены на 2 группы в зависимости от клинической картины поражения нервной системы: