

ТЕЗИСЫ

Материалы XII Всероссийской научно-практической конференции
с международным участием «Отечественные противоопухолевые препараты»

Е.В. Абакушина, Ю.В. Маризина, Н.В. Селиванова, Д.В. Кудрявцев, А.Д. Каприн

УРОВЕНЬ ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫХ МОЛЕКУЛ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ МЕЛАНОМОЙ КОЖИ

МРНЦ им. А.Ф. Цыба - филиал ФГБУ «ФМИЦ им. П.А. Герцена» Минздрава России, Обнинск, Калужская обл.

Актуальность. Оценка количества иммунорегуляторных молекул MICA (MHC class I chain-related gene A), цитокинов (FNO- α , IFN- α , IL-2) и NK-клеток, в крови онкологических больных может служить отправной точкой для мониторинга развития злокачественного новообразования и эффективности терапии.

Цель и задачи. Сравнить уровень стресс-индуцированных молекул MICA, цитокинов и рецепторов NKG2D на NK-клетках у больных меланомой и здоровых добровольцев.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования использовали сыворотку крови и периферическую кровь 20 больных меланомой и 60 здоровых доноров. Для определения уровня MICA, FNO- α , IFN- α и IL-2 использовали иммуноферментный анализ, количество NK-клеток и экспрессию NKG2D определяли с помощью проточной цитометрии.

Результаты. Среднее количество циркулирующего MICA в сыворотке крови больных меланомой составило - 1948 пг/мл, что превышало в 52 раза доноров. Содержание IL-2, FNO- α и IFN- α достоверно не превышало контрольных значений. Количество NK-клеток составило 18%, что не превышало контрольных значений. Экспрессия активационного маркера NKG2D на NK-клетках у больных меланомой составила 89%, что несколько ниже, чем в контрольной группе (95%).

Выводы. Показано, что в периферической крови больных меланомой количество молекул MICA резко возрастает, что приводит к ингибированию активирующего рецептора NKG2D на NK-клетках и, возможно, к снижению выработки цитокинов. Данной категории больных можно назначать препараты цитокинового ряда для активации противоопухолевого иммунного ответа.

Е.В. Абакушина, Ю.В. Маризина, Г.С. Неприна, А.М. Попов, О.Б. Карякин, С.А. Иванов, А.Д. Каприн

ФЕНОТИП ЛИМФОЦИТОВ БОЛЬНЫХ ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНЫМ РАКОМ НА ЭТАПАХ ПРОВЕДЕНИЯ АДОПТИВНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ АКТИВИРОВАННЫМИ NK-КЛЕТКАМИ

МРНЦ им. А.Ф. Цыба - филиал ФГБУ «ФМИЦ им. П.А. Герцена» Минздрава России, Обнинск, Калужская обл.

Актуальность. Адоптивная иммунотерапия (ИТ) представляет собой новую стратегию лечения больных почечно-клеточным раком (ПКР), так как данное заболевание является хорошей мишенью для изучения состояния иммунной системы.

Цель и задачи. Оценить субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови больных ПКР и маркеров активации лимфоцитов на этапах сопроводительной ИТ.

Материалы и методы. Фенотип B-, T-, NKT-, NK-лимфоцитов периферической крови и маркеры активации (HLA-DR, CD38, CD69, CD314, CD25) оценен у больных ПКР.

Результаты. До лечения у больных отмечалось повышение до 13% относительного содержания Treg-клеток и снижение до 10% после ИТ. У 75% больных увеличено число NK-клеток, что говорит об активации противоопухолевой защиты. Показатель экспрессии альфа цепи рецептора IL-2 (CD25⁺) на лимфоцитах превышал норму и составил 22,8%, после ИТ уровень снизился до 13%. Число HLA-DR⁺ лимфоцитов в среднем составило 19,3%, CD38⁺ – 29,6%, а CD69⁺ на NK-клетках – 8,4%. После ИТ число HLA-DR⁺ лимфоцитов уменьшилось до 12,5%, CD38⁺ увеличилось до 32%, а CD69⁺ на NK-клетках – до 12,3%. Среднее содержание рецептора NKG2D на всех лимфоцитах составило 45,8% и после ИТ увеличилось до 51%, а на NK-клетках - 21,50% и снизилось до 15%.

Выводы. Для пациентов данной группы характерно повышение Treg-лимфоцитов, NK-клеток и CD25⁺. После проведения ИТ характерно снижение Treg-лимфоцитов и CD25⁺; повышение маркеров активации CD38⁺ на лимфоцитах и CD69⁺ на NK-клетках. Адоптивная ИТ хорошо переносится и характеризуется отсутствием побочных эффектов.

Д.Е. Автомонов, А.А. Пароконная, Л.Н. Любченко, И.В. Паниченко., В.Н. Богатырев
BRCA-АССОЦИИРОВАННЫЙ РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ЖЕНЩИН МОЛОДОГО ВОЗРАСТА (КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ, ПРОГНОЗ)

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Актуальность. Около 5 % случаев РМЖ в молодом возрасте возникает на фоне герминальных мутаций, генетической основой которых являются гены репарации BRCA1 или BRCA2. Различия в молекулярном патогенезе между BRCA-ассоциированными и спорадическими опухолями молочной железы предполагают, что эти опухоли могут различаться по фенотипическим и прогностическим признакам.

Цель исследования. Выявить различия в клиническом течении между больными спорадическим РМЖ и BRCA-ассоциированным РМЖ

Материалы и методы. Исследование основано на анализе 117 пациенток, больных РМЖ, не старше 35 лет. Всем больным было выполнено молекулярно-генетическое исследование ДНК с целью выявления герминальных мутаций в генах BRCA1 и BRCA2.

Результаты. Мутации в гене BRCA1 определялись у 30 пациенток, у 87 пациенток мутации в генах BRCA1/2 выявлены не были (группа контроля). При анализе было установлено, что для BRCA1-ассоциированного РМЖ характерно: высокая частота РМЖ в семейном анамнезе – 40 % наблюдений, 9 % в контрольной группе ($p < 0,001$); высокая частота диагностики РМЖ на фоне беременности и лактации – 40 % наблюдений, 9,2 % в контрольной группе ($p = 0,002$); преобладание инфильтративного протокового рака (77,8 %); III степень злокачественности – 56,2 %, 26,1 % в контрольной группе ($p = 0,028$); тройной негативный фенотип опухоли – 61,9 %, 26,3 % в контрольной группе ($p = 0,009$); высокая чувствительностью к неоадьювантной химиотерапии: III и IV степень лечебного патоморфоза отмечена в 72 % наблюдений, 18 % – в контрольной группе ($p = 0,011$). Течение заболевания у больных молодого возраста с положительным BRCA1 статусом характеризуется 30 % риском возникновения контралатерального РМЖ в течении первых 5 лет наблюдения, в контрольной группе 5,7 %, ($p = 0,004$). В группе BRCA1-ассоциированного РМЖ 5-летняя безрецидивная выживаемость (БВ) составила $80,1 \pm 8,1$ %, общая выживаемость (ОВ) $92,5 \pm 5,0$ %; в контрольной группе – $80,2 \pm 6,1$ %, $94,7 \pm 2,9$ %. ($p = 0,669$ и $p = 0,341$ соответственно).

Заключение. Наличие герминальной мутации BRCA1 не ухудшает показателей общей и безрецидивной 5-летней выживаемости больных РМЖ молодого возраста.

Н.П. Акентьева

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ RHAMM-ТАРГЕТ ПЕПТИДОВ IN VITRO

Институт Проблем Химической Физики РАН, Черноголовка

Актуальность. Частота возникновения раковых заболеваний в мире растет в геометрической прогрессии. Несмотря на определенные успехи в лечении раковых заболеваний, основной проблемой в онкологии является отсутствие селективности противоопухолевых препаратов. Поэтому разработка способов для таргетной терапии раковых заболеваний является самой актуальной и активно развивающейся областью биомедицины.

Задачи исследования. Изучение терапевтического потенциала RHAMM-таргет пептидов, взаимодействующих с конкретной молекулярной мишенью в клетке – RHAMM-рецептором.

Материалы и методы. Для изучения влияния пептидов на метаболизм, жизнедеятельность клеток рака молочной железы (MDA-MB-231) использовался метод флуоресцентного анализа (AlamarBlue assay). Эффект пептидов на пролиферацию опухолевых клеток оценивался с помощью метода BrdU assay, позволяющего непосредственно оценить изменение синтеза ДНК в клетке. Анализ индукции апоптоза или некроза под действием пептидов проводился иммуноферментным методом (ELISA Cell detection assay). Для количественного измерения эффекта пептидов на активности каспаз-3/7 использовался Caspase-3 Colorimetric Assay (GenScript). Влияние пептидов на инвазивность раковых клеток исследовалось с помощью метода деградации флуоресцентно меченого желатина опухолевыми клетками (QCMTM Gelatin Invadopodia assay).

Результаты. Установлено, что RHAMM-таргет пептиды ингибировали жизнеспособность раковых клеток на 30 %, подавляли их пролиферацию. Показано, что RHAMM-таргет пептиды индуцировали апоптоз и некроз клеток рака молочной железы, стимулировали активность каспаз 3/7. Обнаружено, что RHAMM-таргет пептиды ингибировали инвазивность опухолевых клеток на 70 %.

Выводы. RHAMM-таргет пептиды являются перспективными противоопухолевыми реагентами.

Е.Н. Александрова, Е.Л. Протопович, Д.А. Церковский, Ю.П. Истомин

КОМБИНАЦИЯ ЦИСПЛАТИНА С ФДТ IN VITRO

РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, Минск, Беларусь

Цель исследования. Изучить противоопухолевую активность цисплатина (ЦП) при комбинации с фотолоном и фотооблучением (ФО).

Материалы и методы. Монослой опухолевых клеток HeLa в логарифмической стадии роста инкубировали в течение 24 ч в питательной среде с 0,05 – 0,2 мкг/мл ЦП, затем добавляли на 3 ч 1 мкг/мл фотолона, отмывали холодным раствором Хенкса, добавляли свежую питательную среду и облучали лазером (661 нм) в дозе 0,25 Дж/см². Спустя 21 ч монослой клеток диспергировали 0,02%-ным раствором версена и проводили подсчет живых клеток в камере Горяева.

Результаты и выводы. Инкубация клеток с ЦП без фотолона и без ФО приводила спустя 48 ч к дозозависимому угнетению пролиферации; ЭК₅₀ для ЦП составила 0,17 мкг/мл. Выживаемость клеток после одного воздействия ФДТ с фотолоном составила 59% по отношению к контролю. При комбинированном воздействии ЦП, фотолона и ФО наблюдалось достоверное снижение числа клеток, по сравнению с действием одного ЦП или одного фотодинамического воздействия; ЭК₅₀ для ЦП составила 0,05 мкг/мл. Добавление фотолона или ФО по отдельности не влияло на эффективность ЦП. Комбинация ЦП с фотолоном и ФО приводит к выраженному противоопухолевому эффекту при сниженной концентрации ЦП.

Ю.В. Алексеев¹, А.В. Иванов², А.С. Рябов³, Н.М. Шумилова¹, И.П. Шилов³

МЕТОД ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ И КОНТРОЛЯ ЗА ЛЕЧЕНИЕМ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В КОЖЕ И СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧКАХ

¹ФГБУ «ГНЦ лазерной медицины ФМБА», Москва

²ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Москва

³ФГБНУ «ИРЭ им. В. А. Котельникова РАН, Фрязинский филиал», г. Фрязино

Актуальность. Как известно, иттербиевые комплексы порфиринов (ИКП) являются перспективными маркерами для флуоресцентной диагностики злокачественных опухолей без свойственной традиционным порфиринам фототоксичности при высоком флуоресцентном контрасте и селективности накопления в опухоли. Ранее нами в экспериментах *in vivo* на мышах с подкожно привитой саркомой S-37 по флуоресценции в ближнем ИК-диапазоне было показано четкое его накопление в опухолевой ткани по отношению к нормальной. Дикалиевая соль ИКП (водорастворимый препарат) вводился при этом внутривенно. Флуоресцентный контраст накопления измерялся через 48 часов.

Цель исследования. Разработать новые фармацевтические композиции (ФК) для наружного применения на кожу и слизистые оболочки и необходимую аппаратуру для измерения флуоресценции.

Материалы и методы. Больные-волонтеры с воспалительными и пролиферативными процессами. ИКП в виде гелей для наружного применения, макетный вариант лазерно-волоконного флуориметра (ЛВФ) с выделенным диапазоном измерения 900 – 1100 нм.

Результаты. Разработаны амфифильные ФК ИКП в виде гелей как для эпикутанного применения, так и для нанесения на слизистые оболочки (компоненты разрешены для клинического применения). Подобраны необходимые концентрации ИКП. Выявлено эффективное накопление ФК в местах патологически измененных кожи и слизистых, где установлена четкая разница интенсивности флуоресценции по сравнению со здоровыми тканями (диапазон 900 – 1100 нм). Изменение параметров флуоресценции имеет зависимость от времени измерения и характера протекания патологического процесса.

Выводы. Впервые предлагается метод диагностики и контроля за лечением с наружным применением ИКП. По предварительным данным метод может быть успешно применен в дерматологии, стоматологии, гинекологии и других областях медицины; отличается простотой и информативностью.

А.С. Антипова, О.Ю. Баранова, М.А. Френкель, Н.Н. Тулицын

ТЕРАПИЯ ОСТРЫХ ЛЕЙКОЗОВ СО СМЕШАННЫМ ФЕНОТИПОМ (СФОЛ)

ФГБНУ «РОНЦ имени Н.Н. Блохина», Москва

Актуальность. Острые лейкозы со смешанным фенотипом (СФОЛ) редки и составляют всего 3 % от всех острых лейкозов.

Материалы и методы. В исследованную группу вошли 13 больных ОЛ, из них у 11 определялся миелоидно/В-лимфоидный фенотип бластов, у 2 – миелоидно/Т-лимфоидный.

Результаты. В 8 из 9 обследованных случаев выявлялись прогностически неблагоприятная t(9;22)(q34;q11) и/или химерный ген BCR/ABL. Вариант лечения определялся молекулярно-цитогенетическим профилем заболевания. Больные Ph+ СФОЛ получали иматиниб (ИТК) в комбинации со схемами химиотерапии, принятыми для ОЛЛ (n=8). При отсутствии Ph-хромосомы, а также у необследованных пациентов были приняты схемы терапии, разработанные только для ОМЛ или для ОМЛ и ОЛЛ (n=4). В целом в группе отмечалась высокая непосредственная эффективность: частота ПР – 83,3 % и низкая ранняя летальность – 8,3 %. У всех пациентов Ph+СФОЛ была констатирована ПР. Однако отдаленные результаты были неудовлетворительными, в группе Ph+СФОЛ 3-х летняя ОВ составила 61 % (медиана 36 мес), у остальных – 0 %, (медиана 10 мес.).

Выводы. Таким образом, комплексная характеристика варианта острого лейкоза с включением иммунофенотипических и молекулярно цитогенетических данных позволяет выбрать адекватную схему лечения больных ОЛ. При Ph позитивном варианте обязательным компонентом терапии должны быть ИТК 1 или 2 поколений в комбинации со схемами лечения ОЛЛ. Проблема лечения больных Ph-СФОЛ остается нерешенной.

Т.П. Артемьева, Ю.П. Истомин, Д.А. Церковский

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОМ ФОТОЛОН ЛЕЙКОПЛАКИИ ВУЛЬВЫ

РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, Минск, Беларусь

Цель исследования. Оценка эффективности и безопасности фотодинамической терапии (ФДТ) как органосохраняющего метода у пациенток с лейкоплакией вульвы и перианальной области.

Материалы и методы. Методом ФДТ было пролечено 13 женщин (42 очага) в возрасте от 23 до 78 лет (49,2±16,2 года). Фотосенсибилизатор фотолон (РУП «Белмедпрепараты», РБ) вводили внутривенно в дозе 2,0 мг/кг. Фотооблучение очагов осуществляли через 2,5 – 3 ч после инфузии ФС на полупроводниковом лазере «УПЛ ФДТ» («ЛЕМТ», РБ, λ=661 нм) в экспозиционных дозах света 50 и 100 Дж/см² на одно поле. Плотность мощности – 170 мВт/см²; мощность – 0,3±10% Вт и время облучения – от 10 до 30 минут. Лечение осуществляли под медикаментозным обезболиванием. Метод оценки результатов – клинический.

Результаты и выводы. Контрольное обследование проводилось через 1 и 3 месяца после ФДТ. Во всех случаях отмечена полная регрессия пролеченных очагов. Краевая эпителизация начиналась на 8 – 11 сутки и завершалась через 3 – 6 недель. Осложнений и побочных эффектов зарегистрировано не было. Пациентки находятся под динамическим наблюдением в сроки от 1 до 26 месяцев и в связи с распространенностью процесса продолжают лечение. Полученные результаты позволяют судить о возможности применения ФДТ в лечении данной патологии.

Д.А. Афанасьева, А.А. Рудакова, О.С. Бурова, Л.Ф. Морозова, А.П. Полозкова, М.А. Барышникова

ВЛИЯНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ АРАНОЗЫ НА КЛЕТочНУЮ ГИБЕЛЬ

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Актуальность. В предыдущих работах было обнаружено, что липосомальная лекарственная форма аранозы вызывает гибель опухолевых клеток, устойчивых к «Аранозе лиофилизату для приготовления раствора для инъекций» (араноза-лио).

Цель исследования. Изучение механизма гибели клеток меланомы, вызванной аранозой-лио и липосомальной аранозой.

Материалы и методы. Исследование проводили на клеточных линиях метастатической меланомы человека mel Kog и mel Mtp-X. Клетки 24 ч инкубировали с лекарственными формами аранозы – аранозой-лио и липосомальной. Методом двойного окрашивания аннексином, меченным FITC и пропидием йодидом определяли наличие апоптотической гибели клеток. Определение активной каспазы-3 проводили в реакции иммунофлуоресценции с антителами к каспазе-3, меченными FITC.

Результаты и выводы. Методом двойного окрашивания было показано, что клетки линии mel Kog после 24 ч инкубации с аранозой-лио и липосомальной аранозой погибали по механизму апоптоза. На клетки mel Mtp-X оказывала действие только липосомальная араноза, клетки гибли также по механизму апоптоза, но к аранозе-лио эта клеточная линия была устойчива. При определении в клетках mel Kog и mel Mtp-X уровня активной эффекторной каспазы-3, было обнаружено, что уровень данного фермента под влиянием лекарственных форм аранозы повышался только в клетках mel Kog на 35 % в случае аранозы-лио и на 41 % при действии липосомальной формы. В клетках mel Mtp-X каспаза-3 после воздействия обеих лекарственных форм аранозы оставалась на уровне контроля (около 1 %). Вероятно, гибель клеток mel Mtp-X под влиянием липосомальной аранозы происходит через активацию митохондриального каспаза-независимого пути апоптоза.

А.Н. Балаев, В.Н. Осипов, К.А. Охманович

ОПТИМИЗАЦИЯ СИНТЕЗА 1-3 ФРАГМЕНТА СИНТЕТИЧЕСКИХ АГОНИСТОВ ГОНАДОЛИБЕРИНА

ЗАО "Фарм-Синтез", Москва, Россия

Задачи исследования. Разработка и оптимизация жидкофазного метода синтеза трипептида Pyy-His-TrpOH пригодного для использования в технологическом масштабе при производстве синтетических агонистов гонадолиберина.

Материалы и методы. В настоящее время синтетические агонисты гонадолиберина (бусерелин, гозерелин, лейпрорелин и трипторелин) широко используются при лечении прогрессирующего рака предстательной железы, рака молочной железы, фибромиомы матки, эндометриозе и т.д. Известные методы синтеза Pyy-His-TrpOH имеют ряд существенных недостатков: большое количество стадий (за счёт стадий постановки и снятия защитных групп), высокая себестоимость процесса, использование токсичных реагентов (бензилоксикарбонилхлорид, гидразин гидрат, трет-бутилитрит), жёсткие условия проведения процесса (при проведении конденсации азидным методом). Устранение этих недостатков позволило бы не только существенно повысить эффективность и безопасность производства, но значительно уменьшить себестоимость конечного продукта.

Результаты. Разработанный новый 4-стадийный жидкофазный метод синтеза трипептида с использованием в качестве исходных реагентов пироглутаминовую кислоту, гистидин и гидрохлорид метилового эфира триптофана исключает токсичные и дорогостоящие реагенты и не предусматривает стадий постановки и снятия защитных групп. Разработанная и оптимизированная схема синтеза позволяет легко масштабировать процесс и получать целевое вещество с чистотой более 98 % без использования методов хроматографической очистки.

Выводы. В результате проделанной работы разработан и внедряется в производство (синтез бусерелина и лейпрорелина на ЗАО «Фарм-Синтез») новый легко масштабируемый, технологически приемлемый, жидкофазный способ синтеза Pyy-His-TrpOH. Внедряемый метод позволяет получать целевой трипептид с общим выходом (по 4 стадиям) 40 – 43 % и содержанием основного вещества (по стандартному образцу) более 98 %.

М.А. Барышникова^{1,2}, Д.А. Афанасьева^{1,2}, А.А. Осипова^{1,2}, В.Н.Осипов^{1,2}, К.Р. Матевосян², А.В. Колотаев², С.Ю.Фролова², Д.С. Хачатрян²

ОЦЕНКА ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ

¹ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

²ФГБП «ИРЕА», Москва

Цель исследования. Оценка *in vitro* противоопухолевой активности новых соединений производных пурина, пиридопиримидина – аналоги ацикловира, пиримидопиримидина, а также некоторых производных куркумина, синтезированных в ИРЕА.

Материалы и методы. Для оценки противоопухолевой активности использовали МТТ-тест. Исследование проводили на клеточных линиях опухолей человека: карцинома толстой кишки HCT-116; карцинома простаты LNCap; карцинома простаты PC-3; карцинома легкого A549; аденокарцинома молочной железы MCF-7; диссеминированная меланома Mel Kog; диссеминированная меланома Malmt-3m, Т-клеточный лимфобластный лейкоз Jurkat, полученных из Банка клеточных линий ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина». Активными считали соединения, у которых ИК50 (ингибирующая концентрация, вызывающая гибель 50% клеток) была равна или меньше 100 мкМ.

Результаты. Было протестировано 137 новых соединений, из них 64 проявили противоопухолевую активность в концентрации 100 мкМ. На всех клеточных линиях, используемых в исследовании, были активны 17 соединений в концентрации 100 мкМ, остальные проявили избирательную активность. Однако, в меньших концентрациях большинство соединений были не эффективны. Только 17 соединений сохранили эффективность в концентрации 10 мкМ: der-02789, der-01330, der-01643, D51, D89, D95, D10702, D1701, KOAd6-2, KOA137, KOA138, KOA139, AM3Pt, A342a, det0007, d04605 и d04607. Соединения D89, D95, KOAd6-2 были активны на клетках Jurkat, Malme-3m, MCF-7 и PC-3. Соединение A341a – на Jurkat, A549 и HCT-116. Вещество der-01643 активно в отношении клеточных линий MCF-7 и Mel Kog, KOA-139 – Jurkat и MCF-7, det0007 – A549 и PC-3. Соединение der-01330 было активно на клетках меланомы человека, соединение der-02789 – на LNCap, соединение D51 – на Jurkat, соединения D1701 и AM3Pt – на PC-3, KOA137 и KOA138 – на клетках MCF-7, а d04605 и D10702 – на клетках толстой кишки HCT-116. Соединение d04607 оказывало противоопухолевое действие в концентрации 10мкМ на все используемые в исследовании клеточные линии, и его можно считать наиболее активным.

Заключение. Соединения, у которых обнаружена противоопухолевая активность *in vitro*, будут исследованы для подтверждения противоопухолевого эффекта на перевиваемых опухолях экспериментальных животных *in vivo* и далее будут предложены для доклинических исследований с целью создания новых противоопухолевых препаратов.

О.А. Безбородова¹, Е.Р. Немцова¹, Ю.Б. Венедиктова¹, И.В. Алексеенко², Г.С. Монастырская², Р.И. Якубовская¹, Е.Д. Свердлов², А.Д. Каприн¹

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ГЕННЫХ КОНСТРУКЦИЙ ДЛЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ СУИЦИДНОЙ ТЕРАПИИ

¹ФГБУ «ФМИЦ им. П.А.Герцена» Минздрава России, Москва

²ФГБУН «ИБХ» РАН, Москва

Актуальность. Разработаны две генно-терапевтические конструкции, несущие под контролем цитомегаловирусного промотора (CMV) гены тимидинкиназы вируса простого герпеса (HSVtk) и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора мыши (mGM-CSF – модельная конструкция) или человека (hGM-CSF – фармакопейная конструкция) с невирусной системой доставки (CMV-HSVtk-GM-CSF-PPT). На аллогraftных моделях показано, что модельная конструкция обладает противоопухолевой активностью, а выраженность эффекта уменьшается в ряду: саркома S37>>аденокарцинома толстой кишки C26>рак шейки матки РШМ-5>меланома В16>карцинома легкого Льюис LLC.

Цель исследования. Оценка противоопухолевого действия конструкции CMV-HSVtk-hGM-CSF-PPT на ксенотрансплантатах опухолей человека.

Материалы и методы. Система «CMV-HSVtk-hGM-CSF-PPT+Гц». Мыши BALB/nude с ксеногraftами опухолей человека: аденокарциномы толстой кишки HT29, рака шейки матки HeLa, карцином KB и HEp-2; начало лечения – 10 – 14 сутки роста опухоли (V≈100мм³). Критерии оценки эффективности: торможение роста опухоли (ТРО) и увеличение продолжительности жизни животных (УПЖ).

Результаты. Показано, что через 2 – 4 недели после окончания лечения эффективность составила на моделях: HT29 – ТРО 75 %, УПЖ 22 %; KB – ТРО 61 – 66 %; HeLa – ТРО 51 – 57 %, УПЖ 27 %; HEp2 – ТРО 46 – 50 %, УПЖ=14 %.

Вывод. Выявлена чувствительность опухолей человека к системе «CMV-HSVtk-hGM-CSF-PPT+Гц», которая уменьшается в ряду HT29>KB>HeLa>HEp2. Показан сходный противоопухолевый эффект в отношении опухолей человека и мыши одинакового органного происхождения: HT29 – C26 и HeLa – РШМ-5.

Ю.А. Бельий, А.В. Терещенко, Ю.А. Сидорова

ЛЕЧЕНИЕ АНГИОМАТОЗА СЕТЧАТКИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ИНТРАОКУЛЯРНОЙ ФТД

Калужский филиал ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» МЗ РФ, Калуга

Цель работы. Разработка методики интраокулярной фотодинамической терапии (иФДТ) для лечения ангиоматоза сетчатки.

Материалы и методы. иФДТ проведена пациенту в возрасте 23 года с диагнозом: синдром Гиппель-Линдау. Размер проминенции ангиоматозного узла составлял 3,3 мм. Техника операции: за 30 минут до начала операции внутривенно капельно вводили 50 % от стандартной дозы фотосенсибилизатора (ФС) «Фотолон» в течение 10 минут, а после витрэктомии, удаления эпиретинальных мембран и фиброваскулярной ткани давление воздуха снижали до 18 – 20 мм. рт. ст. и внутривенно вводили оставшиеся 50 % дозы ФС, через 10 минут осуществляли интраокулярное лазерное облучение ангиомы сетчатки с длиной волны 662 ± 2 нм, полями 3,5 – 4,0 мм с перекрытием: сначала облучали участок с питающими сосудами ($250 - 300$ Дж/см²), затем – верхушку ангиоматозного узла (100 Дж/см²), а далее – основание по кругу с захватом 1,5 – 2,0 мм от видимой границы новообразования (50 Дж/см²).

Результаты. Через 3 месяца острота зрения составила 0,2 н/к, проминенция ангиоматозного узла уменьшилась до 1,2 мм без сохранения активности процесса, к 6 месяцам – до 0,8 мм.

Заключение. Разработанная методика является перспективной и позволяет достичь положительного клинического эффекта. Необходимо проведение дальнейших исследований в клинической группе с большим количеством пациентов.

Л.З. Болиева¹, Ю.М. Букреев², С.Г. Галачиев¹, И.М. Лученко², А.В. Погобало³, В.В. Решетникова¹, А.В. Сергеев¹

КОРРЕКЦИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПРИРОДНЫМИ ПОЛИСАХАРИДАМИ И АНТИОКСИДАНТАМИ

¹Северо-Осетинская государственная медицинская академия, Владикавказ

²ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. БЛОХИНА», МОСКВА

³ГОСУДАРСТВЕННАЯ КЛАССИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМ. МАЙМОМИДА, МОСКВА

Актуальность. Хроническая свинцовая интоксикация (ХСИ) в настоящее время рассматривается как существенный фактор риска возникновения злокачественных новообразований.

Цель исследования. Выяснение возможной роли полисахаридов (ПС) и антиоксидантов (АО) в коррекции симптомов ХСИ.

Материалы и методы. ХСИ индуцировали у крыс линии Вистар и мышей BALB/c систематическим введением с кормом ацетата свинца (СВ) в дозе 25 мг/кг в течение 12 – 14 месяцев. ПС сабельника болотного, препараты бета-каротина (БК), БК-содержащего препарата «Каскатол» (КСК) и корня солодки давали ежедневно в течение всего эксперимента. Содержание СВ в плазме крови и тканях животных определяли с помощью хромато-масс-спектрометрии. Симптомы ХСИ регистрировали ежеквартально.

Результаты. Включение ПС и АО в рацион животных с ХСИ приводило к снижению накопления СВ на 20 – 30 % в плазме крови, в костной ткани, в тканях печени и почек. ПС и АО уменьшали на 25 – 45 % симптомы ХСИ, что проявлялось в торможении потери веса, увеличении продолжительности жизни животных, ослаблении симптомов анемии. ПС и АО тормозили в 1,5 – 2 раза симптомы иммунодепрессии, что проявлялось в увеличении пролиферативной активности спленоцитов и усилении цитотоксической активности Т-киллеров и перитонийных макрофагов. ПС и АО ослабляли прооксидантное действие АС, которое выражалось в снижении концентрации малонового диальдегида, повышении активности супероксиддисмутазы.

Выводы. ПС и АО могут рассматриваться в качестве перспективных потенциальных средств химиопрофилактики рака (Cancer chemoprevention).

Е.И. Борисенко¹, О.В. Кочеткова², И.В. Шапошникова¹, Ю.Н. Потапов²

ПРИЗНАКИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК В HER2-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ И HER2-НЕГАТИВНЫХ АДЕНОКАРЦИНОМАХ ЖЕЛУДКА

¹БУЗ ВО «ВОПАБ»; ²БУЗ ВО «ВОКОД», Воронеж

Цель исследования. Изучить особенности роста аденокарцином желудка в зависимости от HER2 статуса новообразования.

Задачи. Исследовать пролиферацию, метастатический потенциал опухолевых клеток.

Материалы и методы. Злокачественные новообразования желудка у 231 больного с I – III стадиями процесса. HER2 статус исследовали стандартно. Пролиферативную активность клеток оценивали по индексу Ki67, апоптоз – по количеству опухолевых клеток с гиперэкспрессией белка mt p53, адгезивную способность – по уровню экспрессии Е-кадгерина.

Результаты. В HER2(+) опухолях средний Ki67 был $71,0\% \pm 4,3\%$, в HER2(–) – $81,5\% \pm 3,5\%$ ($p < 0,1$). Экспрессия mt p53 имела в 60 % HER2(+) и 40 % HER2(–) опухолях. Яркая экспрессия Е-кадгерина была в 61 % клеток HER2(+) и 43 % HER2(–).

Заключение. В HER2-положительных опухолях интенсивность пролиферации, способность к p53-зависимому апоптозу, метастатический потенциал ниже, чем в HER2-негативных. Таким образом, имеет место зависимость степени злокачественности опухолевых клеток от HER2 статуса аденокарцином желудка.

Т.Г. Боровская, С.И. Камалова, А.В. Вычужанина, М.Е. Полуэктова, В.А. Григорьева, Н.Б. Кривова, В.Е. Гольдберг

ВЛИЯНИЕ ДИГИДРОКВЕРЦИТИНА НА МОРФОЛОГИЮ И АНТИОКСИДАНТНО-ПРООКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС СПЕРМАТОЗОИДОВ КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ ПАКЛИТАКСЕЛ

«НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга», Томский НИИ онкологии, Томск

Актуальность. Восстановление фертильности пациентов, получавших цитостатические препараты, является актуальным. Для снижения их токсичности на сперматогенный эпителий обоснованным является использование антиоксидантов. Применяемый антиоксидант должен быть показан для онкологического больного. К препаратам такого плана относится дегидрогверцитин (ДГК).

Целью работы явилось изучение влияния ДГК на морфологию и анти-/прооксидантный баланс сперматозоидов крыс, получавших паклитаксел (П.).

Материалы и методы. Эксперименты проведены на 15 аутбредных сток CD крысах-самцах. 5 крыс опытной группы получали ДГК течение 5 дней до и 5 дней после введения П. Через 3 мес. после начала опыта определялось общее количество сперматозоидов на эпидидимис (ОКС), количество их подвижных форм (КПФ), и анти-/прооксидантную активность гомогената эпидидимиса.

Результаты. Установлено, что при введении одного П. достоверно снижались ОКС и КПФ, анти-/прооксидантный баланс. На фоне введения ДГК, ОКС не отличалось от фоновых значений, КПФ спермиев имел тенденцию к возрастанию, анти-/прооксидантный баланс нормализовался.

Выводы. ДГК может быть использован для снижения токсичности паклитаксела на репродуктивный статус.

Е.В. Бочаров, Р.В. Карпова, О.А. Бочарова, И.В. Казеев, М.В. Уткина

УСИЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ LFA-1 И MAC-1 ПРИ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ СУХОГО ЭКСТРАКТА ФИТОАДАПТОГЕНА НА МОДЕЛИ СПОНТАННОГО ГЕПАТОКАНЦЕРОГЕНЕЗА

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», Москва

Цель работы. Исследование экспрессии лейкоцитарных интегринов LFA-1 (CD11a) и Mac-1 (CD11b) у мышей-самцов инбредной линии СВА с высокой частотой спонтанного гепатоканцерогенеза в раннем и зрелом онтогенезе при профилактическом воздействии сухого экстракта фитоадаптогена.

Материалы и методы. Стандартизованный сухой экстракт на основе фитоадаптогена, включающего компоненты 40 растительных экстрактов, обладающего иммуномодулирующим, интерферогенным, антимуtagenным, антиоксидантным, радиопротекторным эффектами; 200 мышей-самцов линии СВА (сублиния СВА/Lac Y), у которых после 18 мес. в 100 % случаев выявляются гепатокарциномы. Контрольные мыши получали в качестве питья воду; опытные мыши – 0,3% раствор сухого экстракта фитоадаптогена в течение 1-го месяца постнатального развития, захватывая период, соответствующий завершению дифференцировки нормальной ткани печени. Экспрессию CD11a и CD11b антигенов определяли в возрасте 4, 8, 22 месяцев методом проточной цитофлуометрии.

Результаты. В возрасте 4 и 8 месяцев у мышей обеих групп уровень экспрессии CD11a и CD11b антигенов статистически не различался ($p \geq 0,5$). У контрольных мышей к 22 месячному возрасту выявлено достоверное снижение экспрессии CD11a антигена с $45,9 \pm 3,4$ (в 8-месячном возрасте) до $36,5 \pm 1,9\%$ ($p_{8-22}=0,03$) и CD11b антигена – с $12,1 \pm 1,7\%$ до $6,8 \pm 1,1\%$ ($p_{8-22}=0,02$). Это может приводить к недостаточному образованию конъюгатов иммунцитов с опухолевыми клетками-мишенями, что в том числе способствует ускользанию опухоли от иммунологического надзора. У опытных мышей с 8 до 22 мес. отмечена стабилизация показателей ($p_{8-22}=0,2$ для CD11a антигена и $p_{8-22}=0,06$ для CD11b антигена). Вместе с тем, в опытной группе экспрессия CD11a ($44,6 \pm 2,1\%$) и CD11b ($12,1 \pm 1,1\%$) антигенов в позднем онтогенезе была достоверно выше относительно значений контрольных мышей.

Выводы. Контррецепторами LFA-1 являются молекулы межклеточной адгезии ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3 (которые могут находиться на опухолевых клетках), Mac-1 экспрессируется на нейтрофилах, лимфоцитах и NK-клетках, являясь лигандом в том числе ICAM-1. В связи с этим усиление экспрессии лейкоцитарных интегринов LFA-1 (CD11a) и Mac-1 (CD11b) под воздействием фитоадаптогена в ранний постнатальный период может способствовать более высокой иммунореактивности животных в осуществлении киллинга клеток-мишеней эффекторами иммунитета (NK-клетками, цитотоксическими лимфоцитами).

Е.В. Бочаров, О.А. Бочарова, Р.В. Карпова, И.В. Казеев, М.В. Уткина

СНИЖЕНИЕ УРОВНЯ ИЛ-6 И ИЛ-10 У МЫШЕЙ

НА МОДЕЛИ СПОНТАННОГО ГЕПАТОКАНЦЕРОГЕНЕЗА

ПРИ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ ПРИМЕНЕНИИ СУХОГО ЭКСТРАКТА ФИТОАДАПТОГЕНА

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», Москва

Цель и задачи. Оценка сывороточного уровня интерлейкинов 6 (ИЛ-6) и 10 (ИЛ-10) у мышей линии СВА в онтогенезе при профилактическом применении сухого экстракта фитоадаптогена.

Материалы и методы. Стандартизованный сухой экстракт на основе фитоадаптогена, включающего компоненты 40 растительных экстрактов и обладающего иммуномодулирующим, интерфероногенным, антимуtagenным, антиоксидантным, радиопротекторным эффектами; 200 мышей-самцов высокоракетной линии СВА (суб-линия СВА/Лас У), у которых в возрасте после 18 мес в 100% случаев выявляются гепатокарциномы. Контрольные мыши получали в качестве питья воду; опытные мыши - 0,3% раствор сухого экстракта в течение 1-го месяца постнатального развития, захватывая период, соответствующий завершению дифференцировки нормальной ткани печени. Уровень ИЛ-6 и ИЛ-10 определяли в возрасте 4, 8, 22 месяцев с использованием иммуноферментного анализа.

Результаты. Концентрация ИЛ-6 в сыворотке крови у мышей контрольной и опытной групп не различалась в возрасте 4 и 8 месяцев. В возрасте 22 месяцев уровень ИЛ-6 в обеих группах статистически достоверно повысился по сравнению с ранним онтогенезом. Вместе с тем у мышей опытной группы концентрация ИЛ-6 статистически достоверно была ниже, чем у контрольных животных ($117,0 \pm 7,2$ пг/мл и $140,2 \pm 7,2$ пг/мл соответственно, $p=0,03$). Уровень ИЛ-10 в сыворотке крови контрольных мышей статистически достоверно повысился к 22 месячному возрасту до $65,0 \pm 4,1$ пг/мл по сравнению со значениями в более ранние временные периоды. У опытных мышей в позднем онтогенезе этот показатель достоверно увеличился по своей группе до $50,3 \pm 4,7$ пг/мл, но был значимо ниже значения у контрольных мышей ($p=0,03$).

Выводы. Снижение выработки ИЛ-6 под воздействием сухого экстракта фитоадаптогена может приводить к подавлению образования антител против антигенов опухолевых клеток, повышая вероятность их разрушения эффекторами иммунитета, а также препятствовать расщеплению мышечных белков, замедляя развитие кахексии животных; снижение сывороточного уровня ИЛ-10 свидетельствует о восстановлении иммунореактивности в отношении опухолевых клеток, в том числе в связи с повышением продукции интерферона γ . Эти процессы существенны для реализации противоопухолевых реакций.

С.С. Брусов¹, Е.Ю. Щепелина¹, Ю.С. Колоскова², И.Г. Тиганова², Ю.М. Романова²,

Г.А. Меерович³, А.Ф. Миронов¹, М.А. Грин¹

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ИНАКТИВАЦИЯ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* И *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

С ПОМОЩЬЮ КАТИОННЫХ ЦИКЛОИМИДОВ ПРИРОДНЫХ ХЛОРИНОВ

¹МИТХТ имени М.В. Ломоносова, Москва

²ГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи, Москва

³ИОФ имени А.М. Прохорова РАН, Москва

В настоящее время активно развивается метод фотодинамической антимикробной терапии, основанный на инактивации вирусов, бактерий, дрожжевых грибов и простейших активными формами кислорода, которые генерируются фотосенсибилизаторами в возбужденном состоянии.

Анализ имеющихся литературных данных показывает, что вышеуказанный метод значительно отстает по уровню фундаментальной разработки и практического внедрения от противоопухолевой фотодинамической терапии, поэтому его разработка весьма актуальна. Изучение структурно-функциональных особенностей ФС показало, что незаряженные (нейтральные) молекулы ФС активно связываются с грамположительными бактериями и при воздействии света инактивируют их, тогда как фотоинаktivация грамотрицательных бактерий достигается с помощью катионных пигментов.

В ходе данной работы было показано, что предлагаемые нами новые катионные фотосенсибилизаторы на основе метиловых эфиров 13³-N-(N-метилникотинил) пурпурин- и бактериопурпуринимидов, поглощающие при 706 и 830 нм соответственно, способны успешно инактивировать планктонные клетки и биопленки грамположительных *Staphylococcus aureus* 15 и грамотрицательных *Pseudomonas aeruginosa* 32 бактерий.

Изучено влияние возрастающих концентраций ФС, доз и времени облучения на выживание клеток патогенов. Показано, что бактерицидный эффект катионных ФС выше на планктонных культурах по сравнению с биопленками. Оценено влияние способов разрушения биопленок (озвучивание или обработка ДНКазой) перед облучением на эффективность их фотоинаktivации.

В данном исследовании реализован синтез новых ФС на основе природных хлоринов, содержащих различное число положительно заряженных групп, полученных кватернизацией атомов азота в остатках молекул полиаминов.

И.С. Брюховецкий, П.В. Миценко, Е.В. Толок, Р.Ю. Хотимченко, С.В. Зайцев, А.С. Брюховецкий

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ С ИНДУЦИРОВАННЫМ АПОПТОЗОМ ПОДАВЛЯЮТ РОСТ КЛЕТОК ГЛИОМЫ *IN VITRO*, НО ЗАПУСКАЮТ НОВЫЙ МЕХАНИЗМ ОБРАЗОВАНИЯ ОПУХОЛЕВЫХ СТОЛОВОЙ КЛЕТОК

¹ФГАОУ Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

Актуальность. Правильный выбор вектора модификации аутологических стволовых клеток является стратегически важной задачей при создании новых противораковых клеточных препаратов.

Цель работы. Изучение возможности стволовых клеток с индуцированным апоптозом эффективно подавлять рост и вызывать гибель опухолевых клеток *in vitro*.

Материалы и методы. В работе использовали культуру клеток глиомы С6 и препарат гемопоэтических CD 45+ CD34+ стволовых клеток человека преобразованных дексаметазоном. Культивирование проводили в автоматическом режиме с использованием аппарата CellIQ. Для визуального контроля применялась система глубокого оптического имиджинга биоматериалов FluoView FV 1200MPE (Olympus).

Результаты и выводы. Доказано, что гемопоэтические стволовые клетки с индуцированным апоптозом достоверно подавляют рост клеток глиомы при совместном культивировании в соотношении 1:1 и 1:2. В ходе эксперимента в клетках глиомы происходит накопление флуоресцентного красителя, изначально связанного с белками цитоплазмы стволовых клеток. Мы предполагаем, что данный феномен может быть вызван обменом белковыми молекулами, либо слиянием взаимодействующих клеток и лежит в основе образования новых стволовых клеток глиальной опухоли.

О.С. Брюшинина, Р.В. Гурто

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА ИМАТИНИБ В ПЛАЗМЕ КВОИ ЖИВОТНЫХ

НИИФирм им. Е.Д. Гольдберга, Томск

Цель работы. Разработка и валидация методики количественного определения противоопухолевого препарата иматиниб (ИМТ) с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) со спектрофотометрическим детектором (UV) в плазме крови животных.

Материалы и методы. Исследование было проведено с использованием аналитического комплекса Shimadzu Prominence. Состав хроматографической системы: Насос высокого давления с двойным микропунжерным механизмом для подачи подвижной фазы Shimadzu LC-20AD, автоинжектор Shimadzu SIL-20A с механизмом прямого ввода проб, детектор спектрофотометрический с диодной матрицей с термостатируемой проточной ячейкой SPD-M20A, термостат колонок Shimadzu CTO-20A, колонка аналитическая ProntoSIL – 120-5-C18 AQ 2×75мм с предколоночным картриджом.

Результаты. Для определения концентрации ИМТ в ЭДТА K2 плазме животных (кролики), полученные образцы размораживали при комнатной температуре. В пробирку типа эппендорф с герметичной крышкой объемом 5 мл помещали 1000 мкл плазмы, добавляли 1000 мкл этилацетата и тщательно перемешивали в течение 3 минут, после этого пробирки центрифугировали при 4000 об/мин в течение 10 минут. Органическую фазу отбирали в чистые пробирки и добавляли 500 мкл водного раствора муравьиной кислоты (0,2%) с pH=2,5, после чего интенсивно встряхивали в течение 3 минут. Разделение фаз осуществляли центрифугированием при 5000 об/мин в течение 10 минут. Нижнюю водную фракцию отбирали, фильтровали с помощью фильтров типа Millipore с диаметром пор 0,22 мкм, аликвоту 20 мкл использовали для хроматографического анализа. Количественное определение проводили методом соотношения площадей пиков. Метод демонстрирует приемлемую производительность и является пригодным для определения ИМТ в ЭДТА K2 плазме животных в диапазоне от 50 до 2000 нг/мл. Коэффициент детерминации (r²) составлял ≥0,991. Были проанализированы внутрисерийная и межсерийная точность и сходимости для образцов на нижнем пределе количественного определения, с низкой, средней и высокой концентрацией, они находились в пределах 98 – 102%.

Выводы. Разработан и валидирован ВЭЖХ-UV метод оценки концентрации ИМТ в плазме крови животных, который может быть использован для проведения терапевтического лекарственного мониторинга и исследований биоэквивалентности противоопухолевого препарата иматиниб.

А.Б. Бучарская¹, Н.И. Дихт¹, Г.Н. Маслякова¹, Г.С. Терентюк¹, Н.А. Наволокин¹, Б.Н. Хлебцов², Н.Г. Хлебцов²

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ КРЫС С АЛЛОКСАНОВЫМ ДИАБЕТОМ И ПЕРЕВИТЫМ РАКОМ ПЕЧЕНИ ПРИ ВНУТРИВЕННОМ ВВЕДЕНИИ ЗОЛОТЫХ НАНОСТЕРЖНЕЙ

¹ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им.В.И.Разумовского Минздрава России,

²ИБФРМ РАН, Саратов

Цель исследования. Изучить морфологические изменения во внутренних органах при внутривенном введении золотых наностержней у крыс с сочетанной патологией – аллоксановым диабетом и перевитым раком печени.

Материалы и методы. Эксперимент проведен на 48 белых крысах-самцах. Группы животных: контрольная; с диабетом; с перевитым раком РС-1; с сочетанной патологией. Экспериментальный диабет вызывали однократным внутримышечным введением аллоксана моногидрата – 100 мг/кг. Во всех группах крысам однократно внутривенно вводили по 2 мл золотых наностержней (ЗНС), концентрация золота 400 мкг/мл, синтезированных в ИБФРМ РАН. Через сутки забирали: поджелудочную железу, почки, печень, опухоль и проводили морфологическое исследование с использованием стандартных методов окраски и ШИК-реакции.

Результаты. При сочетанной патологии наблюдали нормализацию гликемии, снижение темпов роста опухоли, увеличение некрозов и уменьшение митозов. Через 24 ч после внутривенного введения ЗНС морфологических изменений во внутренних органах и перевитой опухоли печени в экспериментальных группах не выявлено.

Выводы. Внутривенное введение ЗНС через сутки не вызывает морфологических изменений во внутренних органах у крыс с перевитым раком и сочетанной патологией, что свидетельствует о перспективности их применения для решения задач экспериментальной и клинической онкологии.

Т.С. Быркина, А.В. Колаева, Н.Д. Олтаржевская

ПОДБОР КОНСЕРВАНТА ДЛЯ АЛЬГИНАТНОЙ ГИДРОГЕЛЕВОЙ КОМПОЗИЦИИ

ООО «КОЛТЕКС», Москва, Россия

Актуальность. В ходе научных разработок, проводимых компанией «Колетекс», созданы стерильные медицинские изделия «Колегель» с уникальными свойствами: пролонгированное действие, целенаправленная доставка лекарственного вещества к очагу поражения, и представляющие собой вязкие композиции на основе альгината натрия, с введенными в них различными лекарственными веществами.

Цель исследования. Высокая обсеменяемость альгината натрия и, как следствие, изготавливаемых из него изделий до стадии радиационной стерилизации, является основной проблемой, возникающей при производстве данной продукции марки «Колегель». Таким образом, главной целью является разработка способов уменьшения микробной обсемененности данной продукции до финишной радиационной стерилизации.

Задачи. Подбор консервирующей добавки, которая в сочетании с финишной радиационной стерилизацией дозой, установленной в техническом регламенте, обеспечивала бы стерильность данной композиции.

Материалы и методы. Нами были выбраны следующие консервирующие добавки: DS 4 (4% сорбиновой кислоты, заключенной в мицеллы), DS 12 (12% бензойной кислоты, заключенной в мицеллы), DS 44 (4% сорбиновой кислоты и 4% бензойной кислоты, заключенных в мицеллы), сорбат калия, бензойная кислота, смесь сорбата калия и бензойной кислоты.

Результаты. По итогам экспериментов установлено, что добавление в гидрогелевую композицию на основе альгината натрия сорбата калия в концентрации 0,25% масс. в сочетании с гамма-стерилизацией дозой 6 кГр обеспечивает стерильность данной композиции, а также препятствует снижению ее вязкости после финишной стерилизации. Гамма-стерилизация альгинатной гидрогелевой композиции с добавлением 0,25% сорбата калия дозой 15 кГр также обеспечивает ее стерильность, а вязкость удовлетворяет требованиям технического регламента предприятия. Необходимо отметить, что стерильность гидрогелевой композиции на основе альгината натрия в сочетании с радиационной стерилизацией также обеспечила смесь 0,15% сорбата калия и 0,15% бензойной кислоты.

Вывод. Установлено, что сорбат калия в дозе 0,25% масс. обеспечивает стерильность композиции. Для обеспечения стерильности при увеличении срока годности данного медицинского изделия в качестве стерилизующей дозы гамма-облучения можно выбрать 15 кГр.

Т.С. Быркина, А.В. Колаева, Н.Д. Олтаржевская

ПОДБОР КОНСЕРВАНТА ДЛЯ АЛЬГИНАТНОЙ ГИДРОГЕЛЕВОЙ КОМПОЗИЦИИ

ООО «КОЛТЕКС», Москва

Актуальность. В ходе научных разработок, проводимых компанией «Колетекс» созданы стерильные медицинские изделия «Колегель» с уникальными свойствами: пролонгированное действие, целенаправленная доставка лекарственного вещества к очагу поражения, и представляющие собой вязкие композиции на основе альгината натрия, с введенными в них различными лекарственными веществами.

Цель исследования. Высокая обсеменяемость альгината натрия и, как следствие, изготавливаемых из него изделий до стадии радиационной стерилизации, является основной проблемой, возникающей при производстве данной продукции марки «Колегель». Таким образом, главной целью является разработка способов уменьшения микробной обсемененности данной продукции до финишной радиационной стерилизации.

Задачи. Подбор консервирующей добавки, которая в сочетании с финишной радиационной стерилизацией дозой, установленной в техническом регламенте, обеспечивала бы стерильность данной композиции.

Материалы и методы. Нами были выбраны следующие консервирующие добавки: DS 4 (4% сорбиновой кислоты, заключенной в мицеллы), DS 12 (12% бензойной кислоты, заключенной в мицеллы), DS 44 (4% сорбиновой кислоты и 4% бензойной кислоты, заключенных в мицеллы), сорбат калия, бензойная кислота, смесь сорбата калия и бензойной кислоты.

Результаты. По итогам экспериментов установлено, что добавление в гидрогелевую композицию на основе альгината натрия сорбата калия в концентрации 0,25% масс. в сочетании с гамма-стерилизацией дозой 6 кГр обеспечивает стерильность данной композиции, а также препятствует снижению ее вязкости после финишной стерилизации. Гамма-стерилизация альгинатной гидрогелевой композиции с добавлением 0,25% сорбата калия дозой 15 кГр также обеспечивает ее стерильность, а вязкость удовлетворяет требованиям технического регламента предприятия. Необходимо отметить, что стерильность гидрогелевой композиции на основе альгината натрия в сочетании с радиационной стерилизацией также обеспечила смесь 0,15% сорбата калия и 0,15% бензойной кислоты.

Вывод. Установлено, что сорбат калия в дозе 0,25% масс. обеспечивает стерильность композиции. Для обеспечения стерильности при увеличении срока годности данного медицинского изделия в качестве стерилизующей дозы гамма-облучения можно выбрать 15 кГр.

М.Л. Бычков, А.В. Яголович, М.Э. Гаспарян, Д.А. Долгих

DR5-B – СЕЛЕКТИВНЫЙ К РЕЦЕПТОРУ СМЕРТИ DR5

МУТАНТНЫЙ ВАРИАНТ ЦИТОКИНА TRAIL ДЛЯ ТЕРАПИИ TRAIL-УСТОЙЧИВЫХ ОПУХОЛЕЙ
ИБХ РАН, Москва

TRAIL – цитокин семейства фактора некроза опухолей, вызывает апоптоз опухолевых клеток, связываясь с рецепторами смерти DR4 и DR5, не затрагивая нормальные клетки. Однако терапевтическое применение TRAIL ограничено, так как более половины опухолевых клеток нечувствительны к нему отчасти из-за взаимодействия цитокина с непроводящими апоптоз рецепторами «ловушками» DcR1 и DcR2. Нами был получен уникальный DR5-селективный мутантный вариант TRAIL DR5-B, который связывается с DR5 так же эффективно, как и TRAIL, однако практически не связывается с остальными рецепторами TRAIL. Сравнительный анализ цитотоксичности TRAIL и DR5-B показал, что на 9 из 12 линий клеток DR5-B убивал в 1,5 – 5 раза больше раковых клеток по сравнению с TRAIL и не проявлял токсичность по отношению к нормальным клеткам. Химиопрепараты доксорубицин, паклитаксел и бортезомиб усиливали действие вариантов TRAIL, но для большинства типов клеток эффект усиления был ярче выражен для DR5-B. При совместном применении с химиопрепаратами полумаксимальные эффективные концентрации ($ЭК_{50}$) для DR5-B были в 1,5 – 10 раз ниже по сравнению с TRAIL. Таким образом, препарат DR5-B можно рассматривать в качестве перспективного средства как для монотерапии, так и для комбинирования с химиотерапией, при лечении TRAIL-устойчивых опухолей.

П.М. Бычковский¹, А.В. Ваккер², Т.Л. Юркинович¹, Д.А. Адамчик¹

ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА «ЦИСПЛАЦЕЛ» ПРИ НОВООБРАЗОВАНИЯХ ГОЛОВЫ И ШЕИ

¹Учреждение БГУ «НИИ физико-химических проблем», Минск, Республика Беларусь

²ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова», Минск, Республика Беларусь

Задача исследования. Клиническое изучение возможности и эффективности локального применения препарата «Цисплацел» при опухолях в области головы и шеи проводилось в два этапа на базе РНПЦ онкологии и медицинской радиологии.

Материалы и методы. Препарат применен у 66 больных (30 – 74 года) плоскоклеточным раком органов головы и шеи, у которых во время операции была клинически установлена спаянность опухоли с магистральными сосудами и нервами шеи, врастание в глубокие мышцы шеи и др. У абсолютного большинства больных распространенность процесса соответствовала IV стадии. В контрольную группу включены 36 больных с идентичными с основной группой по распространенности опухолями, лечение которых осуществлялось без применения препарата «Цисплацел».

Салфетки «Цисплацела» укладывались на мышцы, стволы блуждающего нерва, шейного и плечевого сплетений, твердую мозговую оболочку, на сосудисто-нервный пучок шеи и даже на денудированный участок внутренней сонной артерии. Послеоперационная рана зашивалась наглухо. Наблюдение за больными продолжалось от 10 до 30 дней.

Результаты. В месте расположения салфеток с цисплатином, раздражение и некроз тканей, даже в тканях орбиты, не отмечены. Каких-либо жалоб, кроме обычных, присущих данному виду вмешательств, больные не предъявляли. Со стороны указанных нервов симптомов связанных с их раздражением не наблюдалось. Не наблюдались и изменения показателей крови. Ни у одного больного в месте расположения препарата не наблюдалось нагноение раны.

В результате местного применения салфеток «Цисплацела» в исследуемой группе рецидивы в месте укладки «Цисплацела» диагностированы у 30 пациентов (45,4 %). У 36 больных опытной группы (54,6 %) рецидивы отсутствовали. В контрольной группе рецидивы опухоли возникли у 23 человек (64,9 %), отсутствие рецидивов наблюдалось у 13 пациентов (36,1 %). Результаты лечения коррелируют с дозой цисплатина помещенного в рану. Так среди 42 пациентов, получивших до 22 мг цисплатина, и прослеженных в течение 3 и более лет, у 17 человек (40,5 %) рецидивы не обнаружены. Среди 12 больных, получивших 75 мг препарата – 8 здоровы, и только у 4 пациентов возникли рецидивы, на 1 – 2 месяца позже, чем в контрольной группе.

Заключение. Проведенное исследование показало, что имплантация препарата в рану абсолютно безопасна, безболезненна, не вызывает некрозы и раздражение тканей, не ухудшает и не удлиняет заживление ран и время госпитализации. Применение «Цисплацела» снижает вероятность возникновения рецидивов в месте его имплантации на 15 – 30 %.

А.В. Ваккер¹, О.В. Курсаков², В.В. Сушевич²

ПОСТРЕГИСТРАЦИОННЫЕ ИСПЫТАНИЯ

ГЕНЕРИЧЕСКОГО ХИМИОПРЕПАРАТА «МЕТОТРЕКСАТ»

¹РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, Минск, Беларусь

²РУП «Белмедпрепараты», Минск, Беларусь

Актуальность. В Беларуси на РУП «Белмедпрепараты» разработано генерическое лекарственное средство «Метотрексат-БМП, таблетки 5 мг». В РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова было проведено его пострегистрационное открытое рандомизированное исследование эффективности, переносимости и безопасности в сравнении с лекарственным средством «Метотрексат-ЭБЕВЕ, таблетки 5 мг» (производство EBEWE PHARMA Ges. M.B.H.Nfg.KG, Австрия).

Материалы и методы. В исследование были включены 67 пациентов с инкурабельным плоскоклеточным раком органов головы и шеи, подлежавшие симптоматическому лечению и получившие до включения в испытания лучевую терапию (70 Гр) и по 2 – 4 курса адъювантной химиотерапии, 29 человек были также оперированы. После рандомизации пациенты исследуемой группы в качестве лечения получали монотерапию «Метотрексатом-БМП», по 25 – 40 мг одномоментно, 1 раз в неделю; пациенты контрольной группы – монотерапию «Метотрексатом-ЭБЕВЕ» в той же дозировке. В общий анализ были включены 60 добровольцев, получивших не менее 3 курсов химиотерапии (Me = 5).

Результаты. Побочные реакции (тошнота I ст., повышение температуры, сонливость и др.) в основной и контрольной группах, наблюдались у единичных пациентов, в первые 1 – 2 дня. Гематологическая токсичность и мукозиты у пациентов обеих групп не наблюдались. Общее состояние пациентов во время лечения не ухудшалось. Анализ результатов лечения после третьего курса, показал отсутствие статистических различий ($p > 0,05$) в уровне терапевтической эффективности препаратов основной и контрольной групп. Данный вывод подтверждается анализом позитивного эффекта (доля ремиссии и стабилизации от общего числа пациентов группы) в сравнении исследуемого и контрольного препаратов по критерию χ^2 (2×2) = 2,41 (при $df=1$ кр. значение 3,841 для $p < 0,05$; коэф. Йетса 1,67). При анализе длительности выживаемости по величинам \bar{x} за период более одного года не выявлено достоверных различий ($d=129,3 \pm 77,6$ ($p > 0,05$); $t = 1,7$), аналогично и при анализе медиан (Me) дожития ($d=29,0 \pm 51,6$; ($P > 0,05$)) и анализе процентилей (25 %) и (75 %) также не было выявлено достоверных различий ($p > 0,05$). Количество пациентов после третьего терапевтического курса без признаков прогрессирования заболевания, как в контрольной, так и в исследуемой группах было в равной степени ($d=23,3 \pm 12,6$; ($p > 0,05$)). Противоопухолевый эффект после третьего курса был равнозначным ($d=14,3 \pm 17,02$; ($p > 0,05$)). Цензурированный процент (по методу Каплана-Майера), за анализируемый период, для Метотрексата-БМП составил 16,7; для Метотрексата-ЭБЕВЕ – 30,4. Кумулятивный коэффициент выживаемости и динамика его снижения на протяжении года у обоих препаратов были одинаковы.

Вывод. Выявлена удовлетворительная переносимость и равнозначная эффективность лекарственных средств у пациентов обеих исследуемых групп, включая длительный (до 21 курса) период применения Метотрексата-БМП.

Е.П. Ветчинкина, А.А. Широков, Н.А. Наволокин, А.Б. Бучарская, Д.А. Мудрак, С.А. Тычина, Н.В. Корчаков, Г.Н. Маслякова, В.Е. Никитина

ВЫЯВЛЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ

У ВЕЩЕСТВ ГРИБНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

ФГБУН Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России, Саратов

Задача исследования. Разработка новых методов лечения онкологических заболеваний приоритетная задача здравоохранения, особенно внедрение высокоэффективных нетоксичных природных лекарственных препаратов с минимальными побочными эффектами. Наиболее перспективными в этом плане являются базидиомицеты *Lentinus edodes* и *Ganoderma lucidum*, содержащие вещества с широким спектром биологического действия.

Материалы и методы. В работе изучали противоопухолевое действие экстрактов из погруженного мицелия *L. edodes* штамм F-249 (1 опытная группа), *G. lucidum* штамм 1315 (3 группа) и его плодовых тел (2 группа). Противоопухолевую активность оценивали на белых беспородных крысах, которым было имплантировано подкожно по 0,5 мл 25% взвеси опухолевых клеток штамма рака почки РА (из банка РОНЦ им. Н.Н. Блохина). Через 72 часа после перевивки крысам опытных групп в течение 10 дней перорально вводилось по 1 мл экстрактов. Ежедневно, с 5-го дня после перевивки, измеряли объем опухолей, на 14-й день животных выводили из эксперимента и проводили гистологическое исследование опухоли.

Результаты. Начиная с 6 дня после перевивки, отмечали задержку роста опухоли в 1 и 3 группах под влиянием экстракта грибов. Масса опухоли на 14 день после перевивки в 1 группе, получавшей экстракт *L. edodes*, была в 2 раза меньше, чем в контрольной группе. В группе сравнения некрозы опухоли составляли 10 – 20 % от площади среза, митозы – до 3 %. В 1 группе капсула опухоли неизменная, некрозы составляли от 50 до 80 %, опухолевые клетки с дистрофическими изменениями отделены друг от друга. Опухолевые клетки были представлены только под капсулой опухоли, выявлялись единичные митозы. Во 2 группе – капсула опухоли фиброзная, утолщенная, полнокровная, слабо инфильтрирована единичными нейтрофилами, лимфоцитами. Некрозы в опухоли составляли от 30 до 50 %, опухолевые клетки с дистрофическими изменениями, местами неизменные, расположены ближе к капсуле. В 3 группе – капсула опухоли неизменная, некрозы в опухоли составляли от 50 до 90 %, опухолевые клетки с дистрофическими изменениями, отмечались признаки апоптоза. Неизменные опухолевые клетки сохранялись только под капсулой, митозы были единичными.

Выводы. Таким образом, установлено, что водные экстракты из погруженного мицелия *L. edodes* и *G. lucidum* обладают самостоятельным противоопухолевым действием, отмечается выраженное торможение роста перевитой опухоли почки РА, развитие дистрофических изменений опухолевых клеток и некротических процессов в опухоли.

А.Ю. Вигоров, И.А. Низова, Д.А. Груздев, А.А. Тумаилов, Г.Л. Левит, В.П. Краснов

СИНТЕЗ ПЕПТИДОВ N-(2-АМИНОПУРИН-6-ИЛ)ГЛИЦИНА С ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТЬЮ

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

Актуальность. Соединения, сочетающие в своей структуре фрагмент пуринового основания и пептидный фрагмент, представляют интерес в качестве соединений с потенциальной биологической активностью, а также основы для синтеза модифицированных нуклеозидов. Среди пуринил-олигопептидов известны вещества с цитотоксической и иммуносупрессивной активностью.

Задача исследования. Разработка метода синтеза пептидов на основе N-(2-аминопурин-6-ил)глицина.

Материалы и методы. Исходя из 2-амино-6-хлорпурина, разработан трехстадийный метод синтеза N-(2-ацетамидопурин-6-ил)глицина, который заключается в защите аминогруппы в положении 2 ацетилизацией, замещении хлора в положении 6 действием *трет*-бутилового эфира глицина и удалении *трет*-бутильной группы трифторуксусной кислотой.

Исследована конденсация N-(2-ацетамидопурин-6-ил)глицина с метиловыми эфирами аминокислот под действием различных конденсирующих агентов и установлено, что оптимальными условиями синтеза целевых дипептидов (выходы 60-70%) является использование в качестве конденсирующего агента тетрафторбората O-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония (ТВТУ) в присутствии органического основания (триэтиламин, диизопропиламин) в диметилсульфоксиде. Синтезированы дипептиды на основе (S)-аланина, (S)-фенилаланина, (S)-валина, (S)-лейцина, (S)-метионина, (S)- и (R)-аспарагиновой кислоты, (S)- и (R)-глутаминовой кислоты, а также неприродной аминокислоты (2S,4S)-4-амино-5-оксо-1-фенилпролина.

На примере дипептидов, имеющих в своем составе фрагменты (S)-аспарагиновой и (S)-глутаминовой кислот, показано, что деблокирование функциональных групп при сохранении пептидной связи в щелочных условиях (1 М NaOH, 20 °С, 3 суток) открывает путь к синтезу пептидов со свободными карбоксильными группами.

Строение синтезированных соединений подтверждено данными спектроскопии ЯМР ¹H и элементного анализа. Химическая чистота подтверждена данными ВЭЖХ.

Результаты и выводы. Разработан метод синтеза N-(2-ацетамидопурин-6-ил)глицина и пептидов на его основе для исследования их противоопухолевой активности.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант 14-13-01077).

Л.В. Винокурова¹, М.А. Агафонов¹, Г.Г. Варварина¹, В.К. Финн², Е.С. Панкратова², Д.А. Добрынин²

ПРИМЕНЕНИЕ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ТИПА ДСМ ДЛЯ АНАЛИЗА КЛИНИЧЕСКИХ ДАННЫХ

¹ГБУЗ МКНЦ ЦНИИГ ДЗМ, Москва

²ВИНИТИ РАН, Москва

Цель исследования. Применить метод интеллектуальной системы типа ДСМ (название в честь Джона Стюарта Милля) для прогнозирования развития сахарного диабета панкреатогенного генеза (СД) у больных хроническим панкреатитом.

Материалы и методы. В секторе интеллектуальных систем ВИНТИ создана интеллектуальная система типа ДСМ, основанная на ДСМ-методе автоматического порождения гипотез. Существующая ИнтДСМ включает в себя: ИнтДСМ = Решатель задач + Информационная среда (база фактов (БФ) и база знаний (БЗ) + интеллектуальный интерфейс (диалог + представление результатов + научение работе с системой). **Результаты.** На первом этапе средствами ДСМ-системы правилами правдоподобного вывода первого рода (индукцией) на обучающей выборке из 81 больных порождались гипотезы 1-го рода: наличие у больного конкретного набора признаков есть причина наличия или отсутствия диагноза СД. На втором этапе с использованием гипотез первого рода правилами 2-го рода доопределялось наличие или отсутствие СД у 42 больных, представленных на прогноз. В результате компьютерных исследований 10 больных были доопределены положительно, т.е. им был поставлен диагноз СД, 28 больных были доопределены отрицательно. Результаты доопределений совпали с реальными медицинскими данными (точность доопределений – 100 %, а полнота – 90 %).

Заключение. Предлагаемая интеллектуальная система является инструментом поддержки медицинских исследований со сложно структурированными данными и множеством фактов, необозримых без использования компьютерных технологий. Результаты применения ДСМ-метода, как средства анализа медицинских данных, указали на новый инструмент доказательной медицины.

Л.Ю. Владимирова, Н.А. Подзорова, Е.Ю. Златник, Е.М. Непомнящая, Н.П. Захарова

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕФНОТА (РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ ТИМОЗИН-АЛЬФА1) В НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» МЗ России, Ростов-на-Дону

Цель исследования. Изучение влияния Рефнота на эффективность неоадьювантной полихимиотерапии (ПХТ) у больных раком молочной железы (РМЖ) IIВ-IIIВ стадии.

Материалы и методы. Основные критерии включения: ECOG \leq 1, адекватная функция почек, печени, костного мозга, отсутствие отдаленных метастазов. Рефнот в дозе 200000 МЕ применялся перитуморально в 1 – 5 день (за 30 минут до введения цитостатиков), в комбинации со стандартными режимами ПХТ (FAC или PA). С апреля 2012 г. по октябрь 2013 г. в исследование были включены 82 больных РМЖ IIВ – IIIВ стадии, в возрасте от 29 до 69 лет; средний возраст 53,3 \pm 1,1 лет. Пациенты группы А (30 человек) получали Рефнот в комбинации с ПХТ в режиме PA (17) и FAC (13) от 2 до 4 курсов. Пациенты группы В (52) получали стандартную ПХТ в режиме PA (28) и FAC (24) от 2 до 6 курсов.

Результаты. Объективный эффект в группе А был отмечен у 80 % больных, а в группе В у 71,1 %, включая полный регресс в 16,6 % и 7,7 % случаев соответственно ($p<0,05$). Степень выраженности и частота проявлений токсических реакций в группе А были незначительно ниже, чем в группе В. Общая выживаемость в группе А 28,4 \pm 1,1мес, в группе В 26,1 \pm 1,4мес; бессобытийная выживаемость в группе А 26,9 \pm 1,3мес, а в группе В 22,9 \pm 1,2мес ($p<0,05$). Количество CD3⁺CD8⁺ клеток в группе А (РА) выше, чем в группе В (РА): 31,5 \pm 2,8 % и 21,7 \pm 2,25 % соответственно ($p<0,05$). Содержание В-клеток (CD20⁺) при использовании обеих схем ПХТ снижалось у больных группы В (FAC) с 15,5 \pm 0,53 % до 13,7 \pm 0,55 %, и в группе В (РА) с 16,7 \pm 0,97 % до 12,7 \pm 1,0 % ($p<0,05$). У больных группы А (РА) уровень CD20⁺ после лечения 15,0 \pm 1,0 %, а у больных группы А (FAC) 15,4 \pm 1,4 %; в обоих случаях отличия от показателей больных группы В статистически достоверны ($p<0,05$). В опухоли под действием Рефнота выявлено: выраженный фиброз стромального компонента, дистрофические, апоптоз и некробиоз в раковых клетках; миксоматоз стромы; мелкие очаги некроза; лимфоцитарная инфильтрация. В группе А отмечено увеличение числа лечебного патоморфоза III – IV степени, по сравнению с группой В: 33,2 % и 17,3 % соответственно ($p<0,05$).

Выводы. Таким образом, перитуморальное применение рекомбинантного ФНО-Т обладает хорошей переносимостью, позволяет увеличить эффективность терапии больных РМЖ IIВ – IIIВ стадии, достигнуть увеличения числа лечебного патоморфоза III – IV степени, а также демонстрирует иммунокорригирующее действие.

Е.Л. Водовозова¹, А.С. Алексеева¹, Н.Р. Кузнецова¹, Н.В. Бовин¹, О.Н. Щегловитова², Е.В. Степанова³

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЛИПОСОМ, НЕСУЩИХ УГЛЕВОДНЫЙ ЛИГАНД СЕЛЕКТИНОВ, С ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ СОСУДОВ КРОВИ

¹ФГБУН ИБХ РАН, Москва

²НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Минздрав РФ, Москва

³ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Актуальность. Ранее нами показано, что 100-нм липосомы из природных фосфолипидов и липофильного пролекарства мелфалана, несущие лиганд селектинов SiaLe^x, вызывают антивазкулярный эффект и сильнее ингибируют рост карциномы легкого Льюис, по сравнению с липосомами без вектора. Селектины экспрессируются на эндотелии в ответ на факторы воспаления и опухолеобразования.

Цели исследования. Изучить влияние введения SiaLe^x-лиганда на механизмы взаимодействия липосом с эндотелиальными клетками.

Материалы и методы. Использовали первичные культуры клеток эндотелия из пупочной вены человека, флуоресцентные трекеры клеточных органелл, цитометрию и конфокальную микроскопию. Клетки активировали фактором некроза опухоли hrTNF α . Липосомы метили по липидному бислою флуоресцентным фосфолипидом на стадии получения липидной пленки перед экструзией, либо двойной меткой (фосфолипидом в бислое и кальцеином во внутреннем водном объеме); включение меток в липосомы контролировали флуориметрически и спектрофотометрически после гель-хроматографии на сефадексе G-50.

Результаты и выводы. Связывание и поглощение липосом активированными клетками росло пропорционально содержанию SiaLe^x. Поглощение сопровождалось дестабилизацией мембраны липосом, необходимой для высвобождения пролекарства. Неактивированные клетки связывали мало липосом вне зависимости от содержания SiaLe^x, причем липосомы сохраняли интактность. Наши результаты свидетельствуют о селективности действия SiaLe^x-липосом на активированные эндотелиальные клетки.

В.Н. Волгин¹, Е.Ф. Странадоко², Г.В. Пономарев³, В.А. Пурицхванидзе⁴, П.Г. Орлова⁴

ПРИМЕНЕНИЕ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В ДЕРМАТОЛОГИИ И КОСМЕТОЛОГИИ

¹ФГКУ «ГВКГ им. Акад. Н.Н. Бурденко», Москва

²ФГБУ «ГНЦ ЛМ ФМБА России», Москва

³ИБМХ им. В.Н. Ореховича, Москва

⁴ЦЕНТР ИННОВАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ «ЛАЗЕРВИТА», Москва

Актуальность. в последнее время все больше расширяется спектр применения фотодинамической терапии (ФДТ) при различных заболеваниях.

Цель исследования. Разработка оптимальных режимов ФДТ с фотосенсибилизатором фотодитазин при различной патологии кожи и слизистых.

Материалы и методы. Лечение методом ФДТ с фотодитазин проведено 127 больным с базально-клеточным раком кожи (БКРК). Возраст больных колебался от 20 до 93 лет, составляя в среднем 66,2 года. Мужчин было 98 (77,2%), женщин – 29 (22,8%). Также проведено лечение больных с плоскоклеточным раком кожи (8), метатипическим раком кожи (4), болезнью Кейра (22), эрозией шейки матки (7), лейкоплакией (26), трофическими язвами (28). 36 пациенткам проведено фотоомоложение кожи лица и шеи. Использовали лазерные установки Аткус-2, Кералаз, Кристалл. Выходная мощность лазеров составляла 0,1 – 3,0 Вт. Плотность мощности излучения 0,1 – 0,5 Вт/см². Фотодитазин вводили внутривенно из расчета 0,7 – 1,2 мг/кг и наносили аппликационно в дозе 2 мкл/см². Оценка результатов ФДТ проводилась по следующим критериям: полная резорбция (ПР) опухоли – отсутствие признаков опухолевого роста; частичная резорбция (ЧР) – уменьшение размеров опухоли не менее чем на 50 %; без эффекта (БЭ) – уменьшение размера опухоли не менее чем на 50 %.

Результаты. При БКРК ПР опухолей наступила у 118 (92,9 %) больных, частичная – у 9 (7,1 %). В процессе исследования отработана доза световой энергии при использовании фотодитазина. Оценена эффективность доз световой энергии от 50 до 500 Дж/см². Наиболее оптимальной дозой для поверхностных очагов оказалась 100 – 200 Дж/см², солидных образований – 200 – 300 Дж/см², а язвенных и экзофитных форм опухолей с глубоким инфильтративным ростом – 300 – 500 Дж/см².

При лечении ПКРК и МТРК ПР наступила в 66,7 % случаев, ЧР – в 25,0 %, БЭ – в 8,3 %. При лечении болезни Кейра ПР наступила в 77,3 %. При лечении трофических язв полное их разрешение произошло в 78,6 % случаев, остальные значительно уменьшились в размерах. При лечении лейкоплакии, эрозии шейки матки за 1 – 3 сеанса ПР наступила во всех случаях. Фотоомоложение кожи лица и шеи имело стойкий эффект в 83,3 % случаев, у остальных – значительное улучшение.

Выводы. Проведенный анализ позволяет сделать вывод, что ФДТ можно использовать при заболеваниях кожи и слизистых различной этиологии и при инволютивных изменениях кожи с высоким терапевтическим эффектом.

Н.Ф. Гамалей¹, А.М. Коробов², Г.В. Пономарев³, И.А. Штонь¹

СПЕКТРАЛЬНАЯ ЗАВИСИМОСТЬ ФОТОИНДУКЦИИ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА, ОПОСРЕДОВАННОЙ ДИМЕГИНОМ

¹ИЭПОР имени Р.Е.Кавецкого НАН Украины, Киев, Украина

²ХНУ имени В.Н.Каразина, Харьков, Украина

³ИБМХ имени В.Н.Ореховича РАМН, Москва, Россия

Цель исследования. Поскольку в работе в качестве фотосенсибилизатора использовался димегин, имеющий пять полос поглощения в видимой области спектра, интересно было сравнить динамику генерирования синглетного кислорода под действием излучения, попадающего в его различные полосы поглощения.

Материалы и методы. В эксперименте использовались три светодиодных источника, максимумы полос излучения которых соответствовали трем максимумам полос поглощения димегина: 405 нм (полоса Core), 501 нм и 608 нм. Ширина полосы излучения светодиодов по уровню половинной интенсивности составляла 25 – 30 нм. Мощность излучения каждого светодиода равнялась 25 мВт, плотность мощности на облучаемой поверхности составляла 3 мВт/см². Уровень продукции синглетного кислорода (¹O₂) в пробах определяли по интенсивности флуоресценции специфического индикатора SOSG. Регистрацию флуоресценции проводили с помощью спектрофлуориметра NanoDrop ND-3300 (США).

Результаты и выводы. При облучении раствора димегина светодиодными источниками с параметрами, указанными выше, наблюдался практически линейный рост продукции синглетного кислорода с увеличением дозы света, независимо от его длины волны. Однако скорость роста продукции ¹O₂ прямо зависела от интенсивности абсорбции света фотосенсибилизатором и была максимальной при облучении димегина фиолетовым светом, попадающим в полосу поглощения Core. Скорость продукции ¹O₂ димегином была минимальной при облучении его светом оранжевого диапазона, абсорбция которого ниже таковой для фиолетового диапазона почти в 30 раз. Скорость продукции ¹O₂ димегином при облучении его зеленым светом, отличающимся по абсорбции от фиолетового света в 6,6 раза, занимала промежуточное значение. Из этого следует, что включение в фотодинамический процесс излучения, попадающего в коротковолновые полосы поглощения многополосных фотосенсибилизаторов, является целесообразным в случаях поверхностной локализации патологического процесса, поскольку излучение коротковолновых участков видимого диапазона спектра проникает в ткани на небольшую глубину.

Н.В. Голубцова, М.В. Оборотова, К.И. Жордания, О.С. Бурова, В.И. Карасева,
К.А. Барышников, Л.Т. Мамедова, А.Ю. Барышников

**ПОЛУЧЕНИЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ ИКО-406
ПРОТИВ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА**

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Цель исследования. Получение моноклональных антител против маркера стволовых клеток человека.

Материалы и методы. Штамм ИКО-406 получали путем слияния клеток мышинной миеломы NS-1 с клетками селезенки мышей линии BALB/C, предварительно иммунизированных внутривенно клетками перевиваемой клеточной линии меланомы кожи человека mel Kog (происхождение – подкожный метастатический узел пациентки с диссеминированной меланомой кожи). Слияние проведено при помощи раствора полиэтиленгликоля ПЭГ/ДМСО («Sigma»). Экспрессию антигенов на клеточной поверхности проводили при помощи реакции непрямой иммунофлуоресценции (РИФ). Полученные результаты оценивали на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto™II.

Результаты и выводы. Супернатанты возникших после гибридизации колоний тестировали методом РИФ на клетках перевиваемой клеточной линии меланомы кожи человека mel Kog, не имеющей антигенов гистосовместимости первого и второго класса, и экспрессирующей 80 – 90 % антигенположительных клеток к маркеру CD117, который находится на поверхности опухолевых стволовых клеток. В супернатанте одной из лунок была выявлена специфическая реакция с клетками mel Kog, используемой в качестве иммуногена. Образцы распределения гистограмм иммунофлуоресценции полученных МКА в сравнении с коммерческими антителами CD117 («MACS Miltenyi Biotec», Германия) показали их идентичность по интенсивности свечения и частоте встречаемости, выявляя одинаковый процент антигенположительных клеток.

Н.В. Голубцова¹, И.Н. Михайлова¹, А.А. Молодых¹, Л.Ф. Морозова¹, М.А. Барышникова¹, П.К. Иванов¹,
Л.В. Демидов¹, А.Ю. Барышников¹

**ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СЫВОРОТОЧНОГО УРОВНЯ β 2-МИКРОГЛОБУЛИНА
У БОЛЬНЫХ МЕЛАНОМОЙ КОЖИ**

¹ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Задачи исследования. Изучение содержания сывороточного уровня β 2-микроглобулина у больных диссеминированной меланомой в процессе адъювантной терапии противоопухолевой аллогенной вакциной «Мелавак».

Материалы и методы. Материалом для исследования служили образцы сывороток крови 15 больных диссеминированной меланомой, полученные до и после проведения адъювантной иммунотерапии вакциной «Мелавак», созданной на основе облученных клеток линии меланомы человека mel Kog, трансфицированных геном ГМ-КСФ. Средний возраст пациентов составил 51 ± 2 лет. В качестве контроля использовались образцы сывороток крови 13 здоровых доноров, сопоставимых по возрасту с больными. Определение сывороточного уровня β 2-микроглобулина (β 2М) проводилось иммуноферментным методом с использованием диагностической тест-системы для количественного определения (ORG5BM-beta-2-Microglobulin, Германия). Учет результатов проводился спектрофотометрическим методом при длине волны 450 нм. Результаты выражали в мг/л. Результаты считались статистически достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Проведение статистического анализа данных проводилось с помощью пакета программ EXCEL 2003 и программы "Фактор Наука" [Колосов Е.А., Сусулёва Н.А, 2001].

Результаты и выводы. При проведенном исследовании в ходе вакцинотерапии пациенты делились на две группы: первая группа ($n=8$) с понижением или незначительным повышением показателей сывороточного уровня β 2-микроглобулина за время вакцинации и группа два ($n=7$) с исходно повышенными значениями сывороточного уровня β 2-микроглобулина и последующим его увеличением в процессе проводимой адъювантной терапии противоопухолевой аллогенной вакциной «Мелавак». При проведенном анализе выживаемости выявлено достоверное увеличение времени до прогрессирования ($p < 0,001$) и увеличение общей выживаемости ($p < 0,02$) в первой группе пациентов. Установлено, что повышение сывороточного уровня β 2-микроглобулина на фоне проводимой вакцинотерапии сопровождается уменьшением времени до прогрессирования и общей выживаемости, а снижение уровня β 2-микроглобулина указывает на благоприятное течение заболевания.

П.В. Голышко^{1,2}, С.В. Ананьев¹, К.А. Барышников¹, Д.В. Новиков^{3,1}, В.В. Новиков³
РАКОВО-ТЕСТИКУЛЯРНЫЕ ГЕНЫ У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

¹ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

²ГКБ № 57, Москва

³НИИ молекулярной биологии и регионарной экологии Нижегородского Государственного Университета им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород

Актуальность. Раково-тестикулярные антигены (РТА) представляют собой группу опухоли-ассоциированных белков, экспрессия которых в норме ограничена только репродуктивными тканями взрослого человека и эмбриональными тканями. При злокачественной трансформации наблюдается aberrантная гиперэкспрессия РТА и их генов.

Цель исследования. Определение мРНК 20 наименований РТА в образцах опухоли и периферической крови 98 больных колоректальным раком.

Материалы и методы. мРНК шести наименований генов семейства MAGEA – MAGE-A1, MAGE-A2 MAGE-A3 MAGE-A4, MAGE-A5, MAGE-A6 – определяемых одновременно с помощью метода, позволяющего выявлять общую для всех шести генов нуклеотидную последовательность мРНК; мРНК восьми генов семейства GAGE (GAGE1-8), также одновременно определяемых по общей для всех нуклеотидной последовательности, мРНК трех генов семейства SSX (SSX1, SSX2, SSX4), мРНК генов XAGE1, NY-ESO1 и мРНК гена MAGEC1.

Результаты. Обнаружено, что выявление мРНК раково-тестикулярных генов можно использовать в качестве мониторинговых тестов. Наличие в крови больного колоректальным раком мРНК генов MAGE-C1 и XAGE1 может быть потенциальным маркером более благоприятного течения заболевания. В то же время, мРНК MAGE-A1-6, GAGE1-8 и SSX1,2,4 генов могут свидетельствовать о неблагоприятном прогнозе.

Заключение. Таким образом, выявление мРНК раково-тестикулярных генов можно использовать в качестве мониторинговых тестов. Так, наличие в крови больного колоректальным раком мРНК генов MAGE-C1 и XAGE1 может быть потенциальным маркером более благоприятного течения заболевания. В то же время, мРНК MAGE-A1-6, GAGE1-8 и SSX1,2,4 генов могут свидетельствовать о неблагоприятном прогнозе.

Г.А. Гордина, О.И. Тарасова, И.Ю. Кубасова, А.В. Киселев, А.Е. Пастушенко
ПАТЕНТЫ И СВИДЕТЕЛЬСТВА НА ОБЪЕКТЫ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
ФГБНУ «РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА» В 2014 Г.

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Из 70 научных тем, планируемых в 2014 году, признаны охраноспособными 21 (30 %), при этом доля НИИ ЭДнТО составила 75 %. Из 40 тем аннотаций диссертаций охраноспособными признаны 10 (25 %).

В 2014 году в РОНЦ поддерживались 69 патента на изобретения, из них: 10 патентов - на соединения и композиции, обладающие противоопухолевой активностью; 17 – на клеточные линии меланомы для создания противоопухолевых вакцин; 14 – способов лечения злокачественных опухолей; 15 – способов ранней диагностики злокачественных опухолей; 4 - способа получения трахеобронхиального биоимплантата и биоинженерной конструкции для замещения костных дефектов.

Поддержание 5 патентов было прекращено в виду их невозможного использования в коммерческих целях.

В 2014 г. было подготовлено и подано в Роспатент 11 заявок на объекты интеллектуальной собственности. Из их числа 7 заявок - на изобретения противоопухолевых средств и 4 заявки на способ диагностики и лечения в эксперименте и в клинике. За этот период получено 8 патентов на изобретения и одно свидетельство на программу для ЭВМ. Объектами 6 патентов на изобретения были способы диагностики, профилактики или лечения. Один патент получен на устройство и один - на полезную модель.

В целях стимулирования изобретательской деятельности авторы патентов изобретений и свидетельства на программу ЭВМ были отмечены денежными вознаграждениями.

О.В. Горюнова, Г.Н. Апрышко, Р.Б. Пугачёва, О.С. Жукова, Л.В. Фетисова, Н.П. Яворская, И.С. Голубева

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ИНДОЛО[2,3-А]КАРБАЗОЛОВ

ФГБНУ «РОНЦ им.Н.Н. Блохина», Москва

Цель исследования. Синтез и исследование новых производных индолокарбазолов с целью обнаружения высокоэффективных противоопухолевых соединений с широким спектром действия.

Материалы и методы. Методы химического синтеза. Компьютерная система PASS, прогнозирующая спектр биологической активности соединений по их химической структуре. МТТ-тест оценки цитотоксической активности веществ *in vitro*. Исследование противоопухолевой активности соединений *in vivo* путем оценки торможения роста опухолей (ТРО, %) и увеличения продолжительности жизни (УПЖ, %) мышей с перевиваемыми опухолями. При исследовании растворенные в воде с добавлением при необходимости 10% ДМСО соединения вводили внутрибрюшинно один раз в сутки в течение 5 дней. **Результаты.** Оригинальным методом получены N-глюкозиды и N-рибозиды индолокарбазолов, содержащие аминокислотные остатки при имидном атоме азота в пятичленном цикле агликона. С помощью компьютерной системы PASS для этих соединений получены высокая (около 75 – 80 %) вероятность проявления противоопухолевой активности и значительно более низкая (около 30 %) вероятность проявления цитостатической активности. При экспериментальном изучении в культурах опухолевых клеток человека CaOv, SKBR-3, SCOv-3 полученные соединения не проявили значимой цитостатической активности. 24 соединения изучены на мышах с перевиваемыми лимфоидным лейкозом Р388, асцитной опухолью Эрлиха, эпидермоидной карциномой лёгкого LLC, раком шейки матки РШМ-5, меланомой В-16, аденокарциномой молочной железы АК-755, раком толстого кишечника АКATOL. 4 соединения оказывали значимое противоопухолевое действие на медленно растущие, высокодифференцированные солидные опухоли РШМ-5 и АКATOL. На мышах с РШМ-5 значимые величины ТРО от 60 до 83 % сохранялись с 18-го до 29-го дня после окончания лечения при УПЖ 25 %; на мышах с опухолью АКATOL от 51 до 67 % ТРО сохранялись до 23-го дня после окончания лечения при УПЖ 30 %. Полученные данные позволяют рекомендовать эти соединения для дальнейшего углублённого изучения противоопухолевой активности. **Выводы.** По результатам первичного скрининга *in silico*, *in vitro* и *in vivo* 4 новых соединения из класса аминокислотных производных индолокарбазолов отобраны для углубленного изучения противоопухолевой активности как кандидаты для создания противораковых лекарств, не обладающих прямым цитостатическим действием.

Т.А. Григорьева, А.В. Гарабаджигу, В.Г. Трибулович

ГЕМАТО-ЭНЦЕФАЛИЧЕСКИЙ БАРЬЕР В РАЗРАБОТКЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ СПбГТИ(ТУ), Санкт-Петербург

Актуальность. Известно, что большинство новообразований головного мозга являются вторичными. Чаше всего метастазами в головной мозг сопровождаются опухоли молочной железы, легких, почек, толстого кишечника и меланомы, причем в настоящее время отмечается значительное возрастание их частоты. Именно метастазирование зачастую становится причиной смертельного исхода заболевания, поскольку гемато-энцефалический барьер предотвращает попадание препарата, способного справиться с первичной опухолью, в мозг.

Цель и задачи исследования. Принципиальным отличием гемато-энцефалического барьера является наличие плотных контактов между клетками эндотелия, в результате чего вещества, не имеющие собственной транспортной системы, могут попасть в мозг только путем пассивной диффузии сквозь эндотелиоциты, мембраны которых содержат Р-гликопротеин, осуществляющий эффлюкс ксенобиотиков и лекарственных веществ обратно в кровяное русло. Нашей задачей было идентифицировать методы, позволяющие еще на стадии разработки оценить способность препаратов преодолевать гемато-энцефалический барьер.

Материалы и методы. Для исследований были выбраны классы производных индолинона и изоиндолинона. Последний обладает противораковой активностью за счет ингибирования взаимодействия белков MDM2 и p53. Соединения были подвергнуты ряду испытаний: 1) *In silico* оценка липофильности соединений при помощи коэффициента logP (программное обеспечение ALOGPS 2.1, <http://www.vcclab.org/lab/alogps>), 2) оценка способности веществ преодолевать ГЭБ при помощи QSAR (программное обеспечение PASS), 3) *in vitro* оценка способности веществ преодолевать мембраны (метод РАМРА, искусственные липидные мембраны), 4) оценка способности веществ взаимодействовать с Р-гликопротеином при помощи QSAR (программное обеспечение PASS), 5) косвенная оценка способности веществ попадать в клетки по проявлению целевой активности *in vivo* (ингибирование взаимодействия MDM2-p53 в клетках U2OSplv1 – оценивается общее количество выживших клеток и количество клеток с зеленым свечением, которое связано с p53-зависимой активацией экспрессией белка GFP, находящегося под промотором р21).

Результаты и выводы. Сравнение результатов, полученных разными методами показало, что величина коэффициента липофильности logP не может служить критерием при оценке способности веществ преодолевать ГЭБ; QSAR позволяет качественно предсказывать способность веществ преодолевать ГЭБ и взаимодействовать с Р-гликопротеином; метод РАМРА является оптимальным для оценки способности веществ преодолевать ГЭБ методом пассивной диффузии, хотя и требует осуществления синтеза исследуемых веществ.

Н.Я. Гридина, Н.Г. Драгунцова

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КАНАЛЬНЫХ БЛОКАТОРОВ
ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ГЛИОМ ГОЛОВНОГО МОЗГА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

ГУ «Институт нейрохирургии им. акад. А.П.Ромоданова НАМНУ», Киев, Украина

Актуальность. Современное лечение злокачественных глиом головного мозга характеризуется низкой эффективностью, появлением осложнений и побочных эффектов. В связи с этим возникает необходимость в подборе медикаментов, обладающих целенаправленным действием на определённые белки или рецепторы, ингибирование которых будет эффективным при торможении опухолевого роста и в то же время не оказывать побочного действия на организм.

Целью работы стало испытание в эксперименте на перевивной крысиной глиоме 101.8 (штамм получен из Института морфологии человека РАН, Москва, РФ) противоопухолевых свойств верапамила и кетамина – канальных блокаторов ионотропных NMDA-рецепторов.

Материалы и методы. В эксперименте использовали 70 крыс линии Wistar 3 – 4-недельного возраста. Перевивку глиомы 101.8 осуществляли путём инъекции в левую теменную долю головного мозга суспензии 1 млн клеток опухоли в изотоническом растворе хлорида натрия. Отечественные препараты 0,25% раствора верапамила и кетамина (50 мг/мл) растворяли в безионной воде в 100, 1000 и 10 000 раз. Препараты в указанных разведениях вводили на 8-е сутки после перевивки крысам глиомы 101.8 ежедневно в объёме 50 мкл внутривентально. Контрольной группе животных после перевивки в указанные сроки вводили внутривентально раствор изотонического раствора в том же объёме.

Результаты. Применение разведений верапамила и кетамина в 100 раз не вызывало противоопухолевого эффекта. Использование разведений указанных препаратов в 10 000 и 100 000 раз привело к достоверному подавлению роста перевивной глиомы у крыс и увеличению продолжительности жизни животных ($p \leq 0,01$). Отсутствие противоопухолевого эффекта при введении больших доз препаратов по сравнению с малыми дозами можно объяснить механизмом ингибирования NMDA-рецепторов на мембранах клеток крови и опухолевой ткани. Известно, что при патологии ионотропные рецепторы становятся более чувствительными и ингибируются значительно меньшими концентрациями канальных блокаторов по сравнению с нормой.

Выводы. В работе показан противоопухолевый эффект, вызванный применением канальных блокаторов верапамила и кетамина в больших разведениях, который опосредуется целенаправленным ингибированием ионотропных рецепторов мембран опухолевых клеток и клеток крови крыс с перевивной глиомой 101.8.

М.А. Грин, А.Ф. Миронов

**НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ПРИРОДНОГО БАКТЕРИОХЛОРОФИЛЛА *a*
ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ И ФЛЮОРЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ В ОНКОЛОГИИ**

МИТХТ имени М.В. Ломоносова, Москва

Выбор природного бактериохлорофилла *a* (Бхл *a*) в качестве лидерного соединения для создания новых фотосенсибилизаторов (ФС) обусловлен рядом причин, главная из которых – интенсивное поглощение в ближней ИК-области спектра (760 – 830 нм), открывающее новые возможности для диагностики и лечения глубокозалегающих и пигментированных опухолей.

Цель работы – создание устойчивых производных Бхл *a* с улучшенными спектральными характеристиками, повышенной гидрофильностью и обладающих значительной тропностью к опухолям. Структура Бхл *a* позволяет химически модифицировать молекулу пигмента с целью присоединения к нему борных кластеров, биологически активных молекул, включая липоевую кислоту, цистеамин и цистамин, молекул красителей различной природы, а также для иммобилизации ФС на наночастицы золота.

В рамках данного исследования были получены бактериоаминоамиды, биологические испытания которых показали высокую фотоиндуцированную активность в отношении клеток человека различного эпителиального происхождения (A549 и HEP2) при наномолярных концентрациях и дозозависимую противоопухолевую эффективность на модели опухоли животных S37. Изучение фотоцитотоксичности конъюгата, содержащего бактериохлорин, связанный с бис(дикарбололидом) кобальта, показало, что полученный ФС по значениям ИК₅₀ и ИК₉₀ для клеток глиобластомы в 4 – 6 раз превосходит аналогичный хлориновый конъюгат, исследованный нами ранее. Бактериопурпуринимид с остатком липоевой кислоты, иммобилизованный на наночастицах (ФС-Au), в экспериментах на крысах с саркомой М-1 длительно циркулировал в кровотоке и имел повышенную тропность к опухоли за счет экстравазации наночастиц, нагруженных пигментом, из дефектных сосудов опухоли.

На основе бактериоаминоамида и дикарбоиндоцианинового красителя Су 5.5 впервые получен конъюгат, фотофизические свойства которого делают его потенциально пригодным для использования в ФДТ И ФД опухолей. Изучение биологической эффективности в гомологическом ряду диалкоксибактериопурпуринимидов, обладающих высокой стабильностью и поглощением в области 800 нм, позволило определить наиболее перспективный ФС, представляющий собой метиловый эфир *O*-пропилоксиа *N*-пропоксибактериопурпуринимида. ФДТ с использованием данного препарата обеспечивает высокую фотоиндуцированную противоопухолевую активность в системе *in vitro* и *in vivo*, 100%-ное торможение роста опухоли (LLC) и 90% излеченность животных за счет селективного накопления в опухоли и быстрого выведения из организма.

Д.А. Груздев¹, А.Ю. Вигоров¹, Е.Н. Чулаков¹, В.В. Мусияк¹, Т.В. Матвеева¹,
Г.Л. Левит¹, В.Н. Даниленко², В.П. Краснов¹

ПОИСК НОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ С ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТЬЮ В РЯДУ КОНЬЮГАТОВ ПУРИНА НА ОСНОВЕ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ АМИНОВ

¹Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, Екатеринбург

²Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

Актуальность. Многие соединения, включающие фрагменты пурина и 2-аминопурина, обладают высокой противоопухолевой активностью. Известно, что в ряду 6-замещённых производных пурина существуют модуляторы протеинкиназ – ферментов, представляющих важную мишень действия противоопухолевых препаратов. Так, среди конъюгатов 2-аминопурина с ароматическими аминами, связанными с положением 6 пурина с помощью линкерного фрагмента, имеются селективные ингибиторы Auroга А киназы.

В связи с этим синтез новых производных пурина может служить мощным инструментом создания потенциальных противоопухолевых агентов.

Задача исследования. Получение конъюгатов пурина и 2-аминопурина с хиральными гетероциклическими аминами, разработка методов анализа их изомерного состава и исследование противоопухолевой активности новых соединений в опытах *in vitro*.

Материалы и методы. Исходя из коммерчески доступных 6-хлорпурина и 2-амино-6-хлорпурина, нами синтезирован ряд новых конъюгатов пурина и 2-аминопурина, имеющих в своей структуре остатки гетероциклических аминов. Получены производные, в структуре которых остатки гетероциклических аминов связаны с пурином и 2-аминопурином по положению 6 напрямую, а также через линкерные фрагменты (остатки глицина и 6-аминокапроновой кислоты). Разработаны методы анализа энантиомерного состава производных 2-аминопурина с помощью ВЭЖХ на хиральных неподвижных фазах. Установлено, что синтез конъюгатов 2-аминопурина, исходя из оптически чистых аминов, не сопровождается рацемизацией и приводит к оптически чистым соединениям.

В настоящее время новые производные пурина и 2-аминопурина исследуются на наличие противоопухолевой активности на культурах клеток с использованием МТТ-теста.

Результаты и выводы. Синтезированы конъюгаты пурина и 2-аминопурина, включающие остатки гетероциклических аминов, соединённых с положением 6 пуринового фрагмента напрямую и с помощью линкеров. Проводится тестирование противоопухолевой активности полученных соединений в опытах *in vitro*.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант 14-13-01077).

И.Д. Гулякин, Е.В. Санарова, А.В. Ланцова, А.П. Полозкова, О.Л. Орлова, Н.А. Оборотова

ВЫБОР КРИОПРОТЕКТОРА ДЛЯ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ЛХС-1208

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва, Россия

Актуальность. Липосомальная лекарственная форма (ЛФ) ЛХС-1208 при хранении недостаточно стабильна, для увеличения срока хранения требуется разработать режим сублимации. Липосомальные препараты при замораживании, лиофилизации и последующей регидратации подвержены разрушению и высвобождению значительной части действующего вещества в раствор. Добавление криопротекторов в водную фазу липосомальной дисперсии перед замораживанием с последующей сублимацией позволяет предупредить фазовое разделение липидной композиции и предохранить инкапсулируемое лекарство от вытекания и сохранить способность липосом к регидратации.

Задача исследования. Подбор криопротектора для разработки стабильной липосомальной ЛФ ЛХС-1208.

Материалы и методы. Субстанция ЛХС-1208 синтезирована в лаборатории химического синтеза НИИ ЭДиТО ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина». Вспомогательные компоненты для получения липосомальной дисперсии: лецитин, холестерин и PEG-2000 DSPE, криопротекторы: глюкоза, маннит, сахароза, лактоза. Липосомы получают по методу Бэнгхем, упариванием ацетона - хлороформного раствора компонентов на ротационном испарителе до образования полупрозрачной липидной пленки, которую гидратируют водой. Липосомы измельчают, последовательно пропуская через поликарбонатные мембранные фильтры Nuclepore с уменьшающимся размером пор 0,45 и 0,22 мкм на экструдере LipexTM Thermobarrel Extruder 10 мл. Количественное определение содержания препарата проводят на спектрофотометре Cary 100 при длине волны 320 нм. Анализ среднего диаметра везикул измеряют на приборе Submicron Particle Sizer Nicomp-380. Для измерения pH раствора используют pH-метр HANNA pH 211.

Результаты и выводы. Проведенный эксперимент показал, что по внешнему виду свежеприготовленные дисперсии липосом с разными криопротекторами не отличались друг от друга (светло-желтые, без признаков расслоения). Липосомальные дисперсии с глюкозой и маннитом после 3 суток хранения расслаивались на 2 фазы, внешний вид липосом с лактозой и сахарозой не изменился, а их средний диаметр после получения 230±5 нм, после 3 суток хранения 255±5 нм. Содержание ЛХС-1208 в липосомах с лактозой и сахарозой после получения и 3 суток хранения составляет 0,5 мг/мл, pH раствора 7±0,5, объем липосомальной дисперсии в одном флаконе 6 мл. В настоящее время в целях повышения содержания ЛХС-1208 в растворе и уменьшения среднего диаметра липосом совершенствуется технология наработки липосомальной дисперсии с добавлением лактозы и сахарозы.

Н.Н. Гурина, А.Д. Перенков, Д.В. Новиков, С.Г. Фомина, А.В. Калугин, В.В. Новиков
УРОВНИ ЭКСПРЕССИИ MUC1 В ОПУХОЛЯХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ТОЛСТОЙ КИШКИ

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород

Актуальность. Ген MUC 1 экспрессируется в эпителиальных клетках. В опухолевых клетках эпителиального происхождения регистрируется гиперэкспрессия гена и гипогликозилирование белка, что делает его потенциальной мишенью для иммунотерапии.

Цель исследования. Оценка уровня экспрессии MUC1 в опухолях молочной железы и толстой кишки. **Задачи исследования.** Сравнить уровень экспрессии мРНК MUC1 и референсного гена (в качестве которого был выбран в2-микроглобулин) и оценить экспрессию MUC1 в различных опухолевых тканях.

Материалы и методы. Методом Real-time ПЦР оценивали уровни экспрессии MUC1 относительно мРНК в 2-микроглобулина. Исследовали 24 образца опухолевых очагов больных раком молочной железы и 12 образцов раком толстой кишки.

Результаты. В опухолевых тканях больных раком молочной железы экспрессия MUC1 регистрировалась во всех образцах. В опухолевых очагах рака толстой кишки мРНК MUC1 была выявлена только в половине образцов. Уровни мРНК MUC1 в образцах опухолевых очагов рака молочной железы и MUC1-позитивных образцах опухолей толстой кишки не отличались между собой.

Выводы. Представленные данные указывают, что при раке толстой кишки и, возможно, при других онкологических заболеваниях перед проведением иммунотерапии против MUC1 необходимо оценивать уровень его экспрессии в клетках опухоли.

*И.В. Гусев¹, Н.Д. Олтаржевская¹, М.А. Коровина¹, А.В. Бойко¹, Л.В. Демидова², И.В. Дрошинева²,
Е.А. Дунаева², Н.А. Федоренко², О.Б. Дубовецкая²*

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВЫСОКОСТРУКТУРИРОВАННЫХ ГИДРОГЕЛЕВЫХ МАТЕРИАЛОВ
НА ОСНОВЕ АЛЬГИНАТА НАТРИЯ С 5-ФТОРУРАЦИЛОМ
ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ШЕЙКИ МАТКИ
И ПРЯМОЙ КИШКИ**

¹ООО «КОЛТЕКС», Москва

²ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, Москва

Цель исследования. Профилактика и лечение с целью радиосенсибилизации при проведении лучевой терапии злокачественных опухолей шейки матки и прямой кишки.

Задачи исследования. Определение эффективности использования высокоструктурированных гидрогелевых материалов (дисков) с 5-фторурацилом для местного подведения препарата при проведении лучевой терапии злокачественных опухолей шейки матки и прямой кишки.

Материалы и методы. В МНИОИ им. П.А. Герцена клинический опыт применения гидрогелевых дисков с 5-фторурацилом у больных раком шейки матки насчитывает 65 больных. Всем пациенткам при местном подведении 5-фторурацила провели курс предоперационного облучения без перерыва.

Результаты. Токсических проявлений со стороны кишечника не отмечено, лишь одна пациентка жаловалась на легкую тошноту. В контрольной группе явления энтероколита 1-2 степени развились у 27,4 % больных, лейкопении 2-й степени возникла у 8,9 %, а 4-й степени – у 2,2 % пациенток. У всех больных после местного подведения гидрогелевых салфеток с 5-фторурацилом отмечена выраженная резорбция опухоли. При анализе лекарственного патоморфоза после выполнения хирургического этапа лечения у 39,6 % пациенток отмечена IV его степень, у 49,2 % – III и у 11,2 % – II степень патоморфоза. В контрольной группе эти цифры составили 17,8, 48,9 и 26,7 % соответственно. У 6,6 % больных был определен лечебный патоморфоз лишь I степени. Данные материалы были использованы у 146 больных раком прямой кишки. Использование гидрогелевых материалов показало высокую эффективность для профилактики лучевых реакций. Лучевые реакции имели меньшую степень выраженности и развивались в более поздние сроки лечения, в основном к концу подведения искомых суммарно очаговых доз. У 84 % а больных к концу лечения развился лучевой ректит I степени выраженности, у 9 % – 2 степени. У 6 больных был недельный перерыв в лечении в связи с лучевой реакцией 3 степени выраженности, после подведения 2/3 дозы лучевой терапии. В течение недели на фоне проводимого лечения гидрогелевыми препаратами лучевые реакции были купированы, и облучение было продолжено до планируемых доз.

Вывод. В исследуемых группах больных, как при раке шейки матки, так и при раке прямой кишки, не было отмечено статистически достоверного усиления лучевых реакций со стороны слизистых. Таким образом, использование «Колгел-диск» с 5-фторурацилом в группе пациентов со злокачественными опухолями шейки матки и прямой кишки при агрессивной предоперационной лучевой терапии обеспечило: снижение общей токсичности лечения; усиление степени резорбции опухоли при меньших суммарных дозах 5-фторурацила; отсутствие усиления местных реакций; выполнение второго этапа лечения (операции) в запланированный срок. Проведенные клинические испытания демонстрируют необходимость и целесообразность использования высокоструктурированных гидрогелевых материалов на основе альгината натрия с 5-фторурацилом в качестве сопроводительного лечения для радиомодификации при лучевой терапии у больных раком шейки матки и прямой кишки.

А.М. Дейчман

ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ПОВТОРОВ, СТРУКТУРЫ И ТИПОВ АКТИВНОСТИ ГЕНОМА ПРИ ОНКОГЕНЕЗЕ

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Последовательности повторов – лабильные структуры, способствующие процессам изменения, обмена и переноса отдельных нуклеотидов и их последовательностей. Пунктуация повторами генов/генома задает рамки реальной/потенциальной активности генома (генетической/эпигенетической). Участвуя в связанных с синтезом ДНК/РНК процессах (различных типов репликации, репарации, рекомбинации, транспозиции, транскрипции и т.д.), повторы преобразуют исходные и создают новые повторы (повтор1→вариант-повтор1/повтор2; нетриплетный→ триплетный повтор, некодирующий→кодирующий); преобразования касаются и окружающих последовательностей.

Пути появления и амплификации повторов во многом не известны. Одним из механизмов синтеза олигонуклеотидов вне ядра (мини/микро-сателлит-подобных/уникальных) может быть гипотетическая вариабельная Поэпитопная Обратная Трансляция (вПОТ) белкового эпитопа, описание которой можно найти в работах на сайте (www.amdeich-var-reverse-translation.ru). Такие повторы, выполняя регуляторные и пластические функции в геноме ядра/(митохондрий) соматических (включая иммунные), стволовых и герминативных клеток, способны запускать адаптивные/эволюционно-значимые процессы (в том числе, генетического поиска), наиболее мощно и ожидаемо проявляемые при онкогенезе.

И.Ф. Демин, Е.А. Волосникова, Г.М. Левагина, Е.Д. Даниленко

ПОДХОДЫ К СОЗДАНИЮ КОНЬЮГАТОВ рЧФНО-АЛЬФА С БИСФОСФОНАТАМИ

ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «ВЕКТОР», Бердск

Актуальность. Одна из задач онкотерапии – ингибирование роста опухолевых метастазов в костную ткань. Известно, что рекомбинантный фактор некроза опухолей альфа человека (рЧФНО-α) обладает мощным противоопухолевым потенциалом. Перспективным средством таргетной доставки лекарств в область костных метастазов являются бисфосфонаты в силу их высокой аффинности к гидроксипатиту кости.

Цель работы. Получение и исследование свойств конъюгатов рЧФНО-α с бисфосфонатом алендроновой кислотой (АЛН).

Материалы и методы. Конъюгирование рЧФНО-α с АЛН проводили с помощью бифункциональных сшивающих агентов (глутаровый альдегид, EDC, Sulfo-SMCC).

Результаты. Электрофоретический анализ полученных конъюгатов в 12%-ном ПААГ показал наличие в образцах белка с молекулярной массой ~16700Да, соответствующей молекулярной массе рЧФНО-α в мономерной форме. Колориметрический анализ подтвердил присутствие в образцах фосфатных остатков АЛН. Цитолитическая активность конъюгата рЧФНО-α с АЛН, определенная в культуре клеток L-929, составляла от $4,4 \cdot 10^7$ до $7,9 \cdot 10^7$ МЕ/мг (для исходного белка – $1 \cdot 10^8$ МЕ/мг), что свидетельствует о сохранности биологических свойств рЧФНО-α в составе конъюгата.

Выводы. Таким образом, конъюгаты рЧФНО-α с алендроновой кислотой обладают выраженной цитолитической активностью и могут быть использованы для дальнейшей разработки на их основе противоопухолевого препарата адресного действия.

М.В. Дмитриева, Н.А. Оборотова, Ю.В. Родионова

СРАВНЕНИЕ СПОСОБОВ ПОЛУЧЕНИЯ ЛИПОСОМ С БОРХЛОРИНОМ

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Актуальность. Метод получения липосомальной лекарственной формы (ЛЛФ) существенным образом влияет на такие важнейшие показатели качества препарата как размер везикул, эффективность включения действующего вещества в везикулы, pH, стабильность при хранении и др.

Задача исследования. Сравнительное изучение способов получения ЛЛФ борхлорина.

Материалы и методы. Липосомальную дисперсию получали гидратацией липидной пленки, упаренной из хлороформного раствора компонентов ЛЛФ – борхлорина (ИНЭОС им. Несмеянова), фосфатидилхолина (E PC S Lipoid GmbH, Германия), холестерина (Sigma, Япония) и дистеароилфосфатидилэтаноламин-ПЭГ-2000 (Lipoid GmbH, Германия) на роторном испарителе (Büchi, Швейцария). Полученную дисперсию фильтровали через нейлоновые мембранные фильтры «Pall» N66 с диаметром пор 1,2 и 0,45 мкм (ООО «Палл Евразия», Россия) с использованием экструдера Lipex™ (Northern Lipids, Канада) и делили на равные объемы (по 30 мл). Для измельчения липосом использовали: 1. экструзию (дисперсию последовательно экструдировали через нейлоновые мембранные фильтры «Pall» N66 с диаметром пор 0,22 мкм (5 раз) и поливинилиденфторидовые мембранные фильтры «Durapore» (Millipore, Ирландия) с диаметром пор 0,1 мкм (2 раза), 2. обработку УЗ (дисперсию озвучивали в УЗ-ванне Transsonic T310 (Elma, Германия) с частотой 20 кГц в течение 1 – 60 мин). Каждый метод оценивали по показателям качества получаемых дисперсий: диаметр везикул (d) и эффективность включения (ЭВ) борхлорина в липосомы.

Результаты и вывод. Измельченные УЗ в течение 30 мин липосомы имели $d 194 \pm 16$ нм, который сохранялся в течение 2 суток хранения при $+3 \pm 5$ °С. Дальнейшее измельчение липосом еще в течение 30 мин не привело к существенному уменьшению d, значение которого находилось на уровне 192 ± 5 нм. ЭВ борхлорина в при УЗ воздействии снижалась от исходного значения после 30 мин озвучивания до 95 %, а после 60 мин – до 93 %. При использовании экструзии с использованием фильтров «Pall» ЭВ составила 98 %, а $d = 185 \pm 10$ нм, который сохранялся в течение 2 суток хранения. При последующем измельчении с фильтром «Nuclepore» наблюдали резкое снижение ЭВ до 93 %. Средний d липосом составил 180 ± 5 нм, однако через 2 суток хранения увеличился до 236 ± 8 нм. Таким образом, в результате сравнения методов изготовления ЛЛФ борхлорина оптимальные показатели качества получены при экструзии с использованием фильтра «Pall» ($d=0,22$ мкм). В этом случае отмечается сохранение высокого уровня включения борхлорина в везикулы и устойчивый в процессе хранения размер липосом.

И.Н. Дружкова, Н.И. Игнатова, Т.Ф. Сергеева, В.В. Дуденкова, М.В. Ширманова, Е.В. Загайнова

НОВЫЙ ПОДХОД В ИССЛЕДОВАНИИ ХИМИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КЛЕТОК КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА НА МОДЕЛИ ОПУХОЛЕВЫХ СФЕРОИДОВ

ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава России, Н. Новгород

Актуальность. Известно, что опухолевые сфероиды более адекватно отражают поведение опухолевых клеток по сравнению с монослойными культурами.

Цель работы. Разработка нового подхода к тестированию лекарственной чувствительности опухолевых клеток с использованием модели опухолевых сфероидов.

Материалы и методы. В работе использованы клеточные линии колоректального рака человека НСТ116 и НТ29. Исследовано действие химиопрепаратов иринотекан, оксалиплатин и 5-фторурацил. Лекарственную чувствительность оценивали с помощью МТТ-теста, анализа морфологической структуры и размеров сфероидов.

Результаты. Установлено, что чувствительность монослойных культур НСТ116 и НТ29 к разным химиопрепаратам отличается. При этом чувствительность клеток линии НСТ116 выше, чем НТ29. При проведении исследований на опухолевых сфероидах выявлено, что клетки наиболее чувствительны к иринотекану. При добавлении иринотекана в однократной полулетальной дозе видны резкие изменения морфологии сфероидов, при этом клетки линии НТ29 оказались более чувствительными, чем НСТ116. В целом, при формировании сфероидов чувствительность опухолевых клеток к химиотерапевтическим препаратам была ниже по сравнению с монослойной культурой.

Заключение. Таким образом, нами разработана оригинальная методика оценки химиочувствительности опухолевых клеток на модели опухолевых сфероидов.

Н.О. Дугин¹, Р.А. Новиков², А.Р. Мехтиев¹, Г.В. Пономарев¹

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА 13¹-, 15²-, 17³-КАРБОКСАМИДОВ ПРИРОДНЫХ ХЛОРИНОВ

¹ИБМХ, Москва

²ИМБ РАН, Москва

В данной работе были исследованы новые производные 13¹-, 15²-, 17³-карбоксамидов хлорина и метилфеофорбида *a*. Был разработан метод получения смешанных мицелл синтезированных производных макроциклов с фосфатидилхолином (ФХ). Наиболее существенные изменения спектральных характеристик наблюдались для фосфолипидных мицелл, содержащих 17³-карбоксамиды. В составе смешанных мицелл макроциклы образовывали самоассоциаты. Форма и размеры смешанных мицелл, а также полидисперсность и стабильность частиц исследованы различными методами. При взаимодействии смешанных мицелл фосфатидилхолина и конъюгатов с клетками MCF-7 наиболее активными оказались 17³-гексадециловые производные пиррофеофорбида с молярным соотношением конъюгата/ФХ равным 1:7 (12,5 моль%). Клеточный захват и их интернализация осуществлялись посредством клатрин-зависимого эндоцитоза и диффузии. Мицеллы локализовались в везикулах эндоплазматического ретикулула и в лизосомах, распространенность каждого из этих механизмов зависела от размера липосомы и структуры конъюгата. Исследуемые фотоэффекты в культивируемых клетках зависели от активности вещества, интенсивности и времени лазерного облучения. Таким образом, новые липофильные 13¹-, 15²-, 17³-карбоксамиды и их комплексы с фосфолипидами могут быть использованы для направленной доставки макроциклов в опухолевые клетки при разработке новых методов фотодинамической терапии.

Н.О. Дугин, Д.К. Шишова, А.Ю. Мишарин, А.В. Веселовский, Г.В. Пономарев

НОВЫЙ СТЕРОИДНЫЙ КОНЬЮГАТ ПИРОФЕОФОРБИДА *a*

ИБМХ, Москва

Рак простаты характеризуется повышенной активностью андрогенового рецептора (AR), обусловленной его мутациями и сниженной лигандной специфичностью. Стероидные антиандрогены обладают сродством к AR, характеризуются повышенным захватом андроген-чувствительными клетками и исследуются в качестве потенциальных противораковых препаратов.

В работе проведены дизайн, синтез и тестирование нового производного пиррофеофорбида *a*, конъюгированного с фрагментом стероидного антиандрогена – 17³(3β,17β-дигидроксипрегн-5-ен-21-ил)-окси-пиррофеофорбида *a* (ДППФ). ДППФ получен 4-х стадийным синтезом из этил-3β,17β-дигидроксипрегн-5-ен-21-оата и пиррофеофорбида *a*. Исследованы спектральные характеристики ДППФ; рассчитаны низкоэнергетические конформации ДППФ и оценено взаимное влияние фрагментов в конъюгате; построена и проанализирована модель комплекса лиганд-связывающего домена AR с ДППФ, в которой стероидный фрагмент ДППФ занимал положение тестостерона; исследовано накопление ДППФ в клетках карциномы простаты LNCaP и PC-3.

Результаты свидетельствуют, что ДППФ и другие химерные конъюгаты макрогетероциклов могут применяться в качестве противораковых агентов и специфичных сенсibilизаторов для ФДТ.

Г.Г. Евсеев, М.А. Барышникова, Г.Б. Лапа

СИНТЕЗ НОВЫХ АМИДОВ 1-МЕТИЛ-3-АМИНОИЗОХИНОЛИНА, ИХ ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И ПОИСК ИХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МИШЕНЕЙ IN SILICO И IN VITRO

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Задачи исследования. Провести синтез и первичный скрининг на селективную цитотоксическую активность новых, патентно чистых производных 1-мети-3-аминохинолина. Определить наиболее вероятные молекулярные мишени отобранных соединений, для увеличения селективности в цитотоксической активности и оптимизации физико-химических свойств, необходимых для доклинических испытаний (стабильность, растворимость и т.п.).

Материалы и методы. Виртуальным скринингом в программах PASS-online и molinsiration были сформированы комбинаторные библиотеки, на основе амидов 3- или 4-аминобензойных кислот и 1-мети-3-аминохинолина с наивысшими коэффициентами ингибиторов протеинкиназ. Для скрининга селективной цитотоксичности (при 100, 50 и 10 μ M) были использованы линии клеток: A498, A549, F9, HCT-116, Jurkat, LNCap, MCF-7, Mel Kog, Mel Mtp, Raji, RT-112, SH-SY5Y, SKBR-3. Для поиска in silico вероятных мишеней использовали PASS-online. Изучение вероятных способов взаимодействия новых соединений с протеин киназами провели в пакете программ AutoDockTools-Vina. Ингибирование связывания меченного 31 P-АТФ с протеин киназами тестировали при концентрации веществ 50 μ M.

Результаты и выводы. Синтетическая стратегия создания библиотеки была подобрана таким образом, чтобы ароматические аминогруппы служили точками, по которым шло комбинаторное наращивание этой библиотеки. В первичном скрининге селективная цитотоксичность была найдена на клеточных линиях A549, HCT-116, Jurkat и MCF-7 для соединений, содержащих в амидной части 1-мети-3-аминохинолина: 4(N-метил-пиперазинил-метилено)-бензамид (LGB-017), 4-[(4-хлорбензил)амино]-бензамид (EGG-005), 4-[(1-этил-1H-пиразол-4-ил)метил]амино}-бензамид (EGG-016). Выживаемость клеток при 50 μ M составила от 24 до 49%. Поскольку для отобранных линий мутация CDKN2A гена является общей, то вероятно ряд киназ, отвечающих за клеточный цикл (CDK2, CDK9, ABL, AuroraA и др.), могли быть активированы. Поиск вероятной мишени in silico (докинг) среди этих киназ показал, что LGB-017 и EGG-005 могли бы связываться с ABL, CDK9, PDGFRa с коэффициентами -8.6 Ккал/мол и ниже. Однако анализ конформаций в активном центре обнаружил, что эти соединения связываются не специфично и они малопригодны для дальнейшей разработки в направлении киназных ингибиторов. Более того, анализ ингибирования связывания киназами (ABL, AuroraA, CDK2, CDK9, PDGFRa, MELK, MLK1) меченного 31 P-АТФ in vitro подтвердил, что LGB-017 и амиды 1-мети-3-аминохинолина очень слабо ингибируют перечисленные киназы.

Н.П. Ермакова¹, А.П. Бонарцев^{2,3}, О.И. Коняева¹, Н.Ю. Кульбачевская¹, В.А. Чалей¹, И.Б. Меркулова¹, Т.В. Абрамова¹, А.А. Сергеев¹, А.Л. Зернов³, С.Г. Яковлев³, Г.А. Бонарцева³, К.В. Шайтан², В.М. Бухман¹

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БИОПОЛИМЕРНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ПАКЛИТАКСЕЛА

¹ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

²МГУ им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва

³Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва

Цель исследования. Изучение «субхронической» токсичности и алергогенности биополимерной лекарственной формы паклитаксела (БЛФП) для лечения опухолевых заболеваний.

Материалы и методы. Исследования проведены на 110 неинбредных крысах самцах, на 60 морских свинках. БЛФП – 5% суспензия биополимерных микрочастиц в физиологическом растворе хлористого натрия. Микрочастицы получены методом пьезоэлектрического распыления на биологическом факультете МГУ. Содержание лекарственной субстанции паклитаксела (ПКЛ) в микрочастицах – 10 \pm 1%. БЛФП вводили крысам 3-кратно внутривентриально ежедневно в 5% концентрации в суммарных дозах соответствующих 1/2 МПД, МПД и ЛД₅₀, полученных при изучении «острой» токсичности.

Результаты. БЛФП во всех исследованных дозах на 1 сутки после 3-кратного введения вызывает экссудативный перитонит, с развитием выраженности процесса к 30 суткам наблюдения и не полным восстановлением к концу опыта (100 сутки). БЛФП вызывает гастроинтестинальную токсичность: диарею, понижение массы тела и дозозависимые деструктивные и дистрофические изменения в тонком кишечнике. Препарат оказывает токсическое действие на периферическую кровь животных, вызывая изменения общего количества лейкоцитов, тромбоцитов и эозинофилов. Морфологически установлена необратимая гипоплазия клеток костного мозга, умеренные деструктивные и дистрофические изменения клеток селезенки. БЛФП вызывает изменения в почках, проявляющиеся повышением количества мочевины в сыворотке крови, изменением суточного диуреза, увеличением относительной массы почек, деструктивными и дистрофическими изменениями в почках. БЛФП оказывает действие на функциональное состояние печени, вызывая дозозависимое понижение уровня альбумина и общего белка в сыворотке крови животных. Морфологически установлено: увеличение относительной массы печени и умеренные воспалительные, деструктивные и дистрофические изменения. БЛФП не вызывает изменений со стороны сердечно-сосудистой системы животных. БЛФП обладает алергизирующими свойствами. Препарат обладает выраженными кумулятивными свойствами.

Вывод. На основании полученных результатов дальнейшее изучение БЛФП при внутривентриальном применении не рекомендовано.

Р. М. Жабина, А. В. Мешечкин, Ю. В. Суворова

КОМБИНИРОВАННОЕ ЛЕЧЕНИЕ ПЕРВИЧНЫХ И РЕЦИДИВНЫХ ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий», Санкт-Петербург

Цель исследования. Улучшение результатов лечения больных первичными опухолями головного мозга путем оптимизации лечебно-диагностического процесса.

Методы и материалы. Наблюдались и получали лечение 402 больных первичными опухолями головного мозга. Лечение: операция, лучевая и полихимиотерапия. Область лучевого воздействия включала весь объем опухоли и не менее 1,5 – 2 см перитуморальной зоны. Облучение проводилось ежедневно, 5 раз в неделю, СОД 60 Гр. Лучевая терапия сочеталась химиотерапией. В режиме монокимиотерапии использовали: нидран, кармустин, мустофоран, темодал по принятым схемам. Диспансерное наблюдение 1 раз в 1,5-2мес. С 2001 года больным с рецидивами глиальных опухолей стали проводить церебральную ангиографию с интрацеребральным введением химиопрепаратов, с лечебной и радиосенсибилизационной целью и последующей лучевой терапией. За сутки до лучевой терапии выполнялась церебральная ангиография с интрацеребральным введением химиопрепарата кармустин (1/2 дозы) с последующим системным введением оставшейся 1/2 дозы препарата. Облучение больных с рецидивом анапластической астроцитомы GrIII, глиобластомы GrIV или с мультиформной глиобластомы головного мозга в возрасте < 55 лет, индексом Karnofsky > 70 %, РОД 2Гр, проводили ежедневно, 5 дней в неделю. Облучение до СОД 40 Гр локально на область очаговых изменений. Далее больные получали курсы МХТ и симптоматическую терапию. По данному протоколу было пролечено 246больных.

Выводы. Положительный эффект при комбинированном лечении глиальных первичных и рецидивных опухолей головного мозга, по нашему мнению, зависел от соблюдения алгоритма диагностических и лечебных мероприятий. Получено повышение эффективности хирургического и химиолучевого лечения больных глиальными опухолями головного мозга. У 2 % больных глиобластомой головного мозга отмечена 5-летняя выживаемость.

Р.М Жабина, А.В Мешечкин, Л.И Корытова

КОМБИНИРОВАННОЕ ЛЕЧЕНИЕ РЕЦИДИВОВ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий», Санкт-Петербург

Актуальность. Лечение больных злокачественными опухолями головного мозга (ОГМ) является одной из самых сложных проблем современной медицины. Применение лучевой терапии (ЛТ) и химиотерапевтического (ХТ) лечения после реопераций ограничено или не используется вовсе.

Цель исследования. Оценить эффективность комбинированного лечения больных с рецидивами ОГМ. **Материалы и методы.** Работа основана на анализе результатов комбинированного лечения 52 пациентов с рецидивами первичных злокачественных ОГМ (глиобластома (Gr4) – 24 пациента, анапластическая астроцитома (Gr 3) – 28 пациентов). Рецидив опухоли подтверждали с помощью повторной операции, позитронно-эмиссионной и магнитно-резонансной томографии. В комплекс лечебных мероприятий при рецидивах ОГМ входили: повторное оперативное вмешательство, ХТ и ЛТ. Суммарные очаговые дозы при первичном облучении составили 50 – 60 Гр. При рецидивах ОГМ все пациенты в нашем Центре получали ЛТ, 96 % из них – ЛТ и ХТ. Лишь у 56 % больных было проведено комбинированное лечение, включающее операцию, ЛТ и ХТ. При повторной ЛТ суммарные очаговые дозы (СОД экв.) варьировали от 30 до 40 Гр. При этом СОД 30 Гр получили 14 пациентов, 40 Гр – 38 пациентов, ЛТ проводилась в сочетании с ХТ в стандартных дозах, при этом темодал использовался у 34 пациентов, ломустин с винкристином – у 13 пациентов, мустофоран – у 5 пациентов. **Результаты.** Лучевая терапия была проведена всем больным в полном объеме, без перерывов в лечении. Переносимость лечения была удовлетворительной. После первичного лечения медиана времени до рецидива ОГМ у больных с анапластическими астроцитомами в среднем составила 61 мес., а при глиобластомах – 11 мес. Средняя продолжительность жизни у больных с АА после повторного лечения ОГМ составила 29 мес. У больных с глиобластомами средняя продолжительность жизни после рецидива составила 10 мес.

Выводы. Применение повторного химиолучевого лечения при рецидивах ОГМ повышает выживаемость больных данной категории.

О.С. Жукова¹, М.В. Киселевский¹, Л.В. Фетисова¹, Б.З. Елецкая², А.О. Денисова², М.Я. Берзина², А.Л. Каюшин², И.Д. Константинова²

ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПУРИНОВЫХ НУКЛЕОЗИДОВ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ ХИРАЛЬНЫМИ АМИНОКИСЛОТАМИ

¹ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина», Москва

²ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

Актуальность. Лечение острых лимфобластных лейкозов у детей является одной из успешных областей химиотерапии злокачественных опухолей. Однако частота рецидивов составляет порядка 20 % с плохим прогнозом. Новым эффективным препаратом для лечения рецидивирующей и устойчивой Т-клеточной форм ОЛЛ является неларабин (арабинофуранозилгуанин). Представляет практический интерес поиск новых активных аналогов неларабина для создания на их основе отечественного препарата.

Цель исследования. Оценить цитотоксическую активность двух серий модифицированных нуклеозидов: ряда Д-арабинозы, содержащего хиральные аминокислоты в С6 положении пуринового гетероциклического основания, а также аналогов 3'-дезоксиаденозина. Проанализировать связь структуры и цитотоксической активности.

Материалы и методы. Цитотоксическую активность оценивали по выживаемости клеток линии U937 с помощью стандартного МТТ-теста. Препаратом сравнения служил препарат неларабин. Активность соединений сравнивали по стандартному показателю IC50.

Результаты. Из 8 нуклеозидов первой серии активность показана для С6-L-серинового аналога (1) с атомом хлора в С2 положении (IC50= 16 мкМ). Из 3 аналогов второй серии активность обнаружена у производного с атомом фтора в С2 положении (2) (IC50=14 мкМ). Следовательно, введение атомов хлора или фтора в С2 положение и введение L-серина в С6 положение пуринового гетероциклического основания, использование Д-арабинозы или 3'-дезоксирибозы в качестве углеводного остатка приводила к появлению цитотоксической активности в обоих рядах соединений. Цитотоксическая активность соединений 1 или 2 несколько уступала неларабину (синтезирован в лаборатории биотехнологии ИБХ РАН, IC50=3 мкМ).

Выводы. Целесообразно продолжить поиск новых модифицированных нуклеозидов, не уступающих по активности неларабину и имеющих более низкую токсичность.

Т.Н. Заботина, О.В. Короткова, Д.В. Табаков, А.А. Борунова, З.Г. Кадагидзе

ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ CD8 ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ДОНОРОВ

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина», Москва

Цель исследования. Изучение фенотипической структуры CD8 лимфоцитов периферической крови (ПК) здоровых доноров, опосредующей функциональную цитотоксическую активность.

Материалы и методы. В качестве клеток-мишеней использовали лимфоциты (ПК) 45 здоровых доноров, из которых 36 женщин и 9 мужчин. Анализ субпопуляционной структуры осуществляли с помощью многопараметровой проточной цитометрии. Для изучения цитотоксической состоятельности CD8 эффекторных лимфоцитов использовали коммерческую тест-систему (BD Biosciences).

Результаты. Анализ гистограмм распределения антиген-позитивных клеток показал, что при гейтировании клеток по параметрам бокового/малоуглового светорассеяния SSC vs CD45 популяция лимфоидных CD8 лимфоцитов составляет 34,8±1,9 % антиген-положительных клеток и колеблется от 26,0 до 50,5 %. Выявлено, что в анализируемой группе доноров 66,9 % CD8+ лимфоцитов являются клетками с высокой плотностью антигена, а 33,1 % CD8+ лимфоцитов обладали средней/слабой степенью насыщения этим белком. Количество антиген-положительных клеток с фенотипом CD8+CD3+ представлено на 27,3±2,4 %, а клетки с фенотипом CD8+CD3- определяются на 7,5±1,5 % CD45+лимфоцитов ПК здоровых лиц. Анализ структуры CD8+лимфоцитов показал, что на долю CD8+CD3+CD45+ клеток приходится 76,2 %, а клетки с фенотипом CD8+CD3-CD45+ составляют 23,8 % среди CD8+лимфоцитов, что сопоставимо с данными, полученными при гистограммном анализе образцов в зависимости от степени экспрессии белков CD8+high и CD8+medium/low. Выявлен высокий уровень корреляции (r=0,54) клеток с фенотипами CD8+CD3-CD45+ и CD8+medium/lowCD16+CD45+ в ПК здоровых лиц – 7,5±1,2 % и 6,4±1,3 % соответственно. Был проведен анализ распределения внутриклеточного белка перфорина в CD8 клетках с различным уровнем экспрессии антигена. Обнаружено, что у здоровых доноров перфорин+ субпопуляцией являются клетки со слабой экспрессией CD8 белка.

Вывод. Таким образом, по степени экспрессии поверхностного антигена на мембране CD8+ лимфоцитов ПК возможно выявление различных субпопуляций, в том числе специфических цитотоксических Т-клеток.

Т.Н. Заботина, О.В. Короткова, А.А. Борунова, Д.В. Табаков, И.И. Бокин, И.В. Паниченко, М.В. Савостикова, И.В. Самойленко, В.Т. Циклаури, Ш.Г. Хакимова, З.Г. Кадагидзе

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУНОФЕНОТИПА ЛИМФОЦИТОВ, ИНФИЛЬТРИРУЮЩИХ ОПУХОЛЬ, И ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина», Москва

Цель исследования. Провести сравнительное изучение структуры лимфоидных клеток периферической крови и лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль у онкологических больных.

Материалы и методы. Исследованы образцы опухолевой ткани больных раком яичников, меланомы, раком слизистой оболочки полости рта, раком молочной железы, полученные интраоперационно или путем сог- биопсии. Для получения клеточных суспензий проводили фрагментацию ткани опухолей с использованием Medimachine (BD Biosciences). Все полученные образцы подвергались цитоморфологическому контролю. Структуру субпопуляций клеток оценивали по связыванию с моноклональными антителами различной специ- фичности методом многопараметровой проточной цитометрии.

Результаты и выводы. Оценка образцов опухолевых клеток показала, что содержание лимфоидных клеток (TIL) с фенотипом CD45+ в полученных суспензиях не превышает $0,97 \pm 0,32$ %. При сравнении уровня линей- ных популяций лимфоцитов (T-B-NK) обнаружено, что в структуре TIL показатели CD3+CD19- значительно превышают соответствующие популяции периферической крови – $89 \pm 3,5$ % и $64,3 \pm 4,2$ % соотв. Количество NK-клеток с фенотипом CD45+CD3+CD16+CD56+ среди лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль, напротив оказалось резко снижено по сравнению с показателями периферической крови – $4,8 \pm 1,1$ % и $21,5 \pm 1,4$ % соот- ветственно. При сравнении цитотоксического потенциала NK-клеток в периферической крови и в ткани, оцени- ваемого по содержанию внутриклеточного перфорина, выявлено отсутствие цитотоксической активности NK- клеток в структуре TIL. Аналогичным оказалось соотношение В-лимфоцитов – $2,75 \pm 0,3$ и $6,8 \pm 0,4$ %.

С.И. Заброда, Е.А. Маслюкова, Л.И. Корытова, К.М. Пожарисский, Г.А. Раскин, О.В. Корытов

RANK–МАРКЕР (РЕЦЕПТОР АКТИВАЦИИ НУКЛЕАРНОГО ФАКТОРА – κ B) У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ФГБУ «РНЦРХТ», Санкт-Петербург

Цель работы. Исследование экспрессии RANK в опухолевых клетках у больных РМЖ.

Материалы и методы. С целью изучения уровня RANK проводилось иммуногистохимическое исследование 83 пациентки с РМЖ (T2-4N0-3M0), которое выполнялось по стандартному протоколу на срезах биопсийного материала.

Результаты. Оценка уровня RANK осуществлялась путем подсчета числа позитивных клеток относительно общего числа опухолевых клеток. Экспрессия более чем в 5 % клеток расценивалась как высокая, менее 5 % – низкая. По уровню экспрессии больные были разделены на две группы: первая – с высоким RANK (high), вто- рая группа – с низкой экспрессией RANK (low). В группу RANK (high) вошли 39, в группу RANK (low) – 44 пациенток. Не было отмечено каких-либо достоверных различий в отношении наличия или отсутствия пора- женных регионарных лимфатических узлов, категории Т и индекса Ki-67 в отношении экспрессии OPG. В группе с положительным эстроген прогестероновыми рецепторами OPG(high) встречались достоверно чаще, чем в группе с отрицательными рецепторами, $p < 0,05$. У больных с высокой экспрессией RANK время до про- грессирования и выживаемость были достоверно выше по сравнению с аналогичными показателями у пациен- тов с RANK (low) .

Вывод. RANK в клетках опухоли РМЖ – дополнительный прогностический маркер.

С.И. Заброда, Е.А. Маслюкова, Л.И. Корытова, К.М. Пожарисский, Г.А. Раскин, О.В. Корытов

ЭКСПРЕССИЯ ОСТЕОПРОТЕГЕРИНА (OPG) В ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (РМЖ)

ФГБУ «РНЦРХТ», Санкт-Петербург

Цель исследования. Исследование экспрессии OPG в опухолевых клетках у больных РМЖ.

Материалы и методы. С целью изучения уровня OPG проводилось иммуногистохимическое исследование 83 пациентки с РМЖ (T2-4N0-3M0), которое выполнялось по стандартному протоколу на срезах биопсийного ма- териала. Оценка уровня OPG осуществлялась путем подсчета числа позитивных клеток относительно общего числа опухолевых клеток. Экспрессия более чем в 50 % клеток расценивалась как высокая, менее 50 % – низ- кая.

Результаты. По уровню экспрессии больные были разделены на две группы: первая – с высоким OPG (high), вторая группа – с низкой экспрессией OPG (low). В группу OPG(high) вошли 47, в группу OPG (low) – 36 паци- ентки. Не было отмечено каких-либо достоверных различий в отношении наличия или отсутствия пораженных регионарных лимфатических узлов, категории Т и индекса Ki-67 в отношении экспрессии OPG. В группе с по- ложительным эстроген прогестероновыми рецепторами OPG(high) встречались достоверно чаще, чем в группе с отрицательными рецепторами, $p < 0,05$. У больных с высокой экспрессией OPG время до прогрессирования и выживаемость были достоверно выше по сравнению с аналогичными показателями у пациентов с OPG (low) .

Вывод. OPG в клетках опухоли РМЖ – дополнительный прогностический маркер.

М.П. Завелевич, Л.М. Куява, А.А. Фильченков

ГЕРОГЕННОСТЬ ОТВЕТА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ЛИМФОИДНЫХ КЛЕТОК БОЛЬНЫХ В-КЛЕТОЧНЫМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ *IN VITRO* НА ИНДУКТОРЫ АПОПТОЗА

ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев

Задачи исследования. В-клеточный лимфолейкоз (В-ХЛЛ) представляет собой клинически гетерогенное заболевание. Неоднородным является и ответ на терапию цитотоксическими химиопрепаратами, что приводит к существенным индивидуальным различиям клинического ответа на терапию В-ХЛЛ. Задача исследования заключалась в анализе цитотоксичности и индукции апоптоза в первичных культурах мононуклеаров периферической крови больных В-ХЛЛ при действии цитотоксических средств с различным механизмом действия.

Материалы и методы. Исследования проводили в первичных культурах клеток периферической крови 26 больных В-ХЛЛ, не экспрессирующих CD38. Анализировали также 2 культуры, полученные из периферической крови больных с лимфоцитозом без признаков моноклоновости. Гибель клеток оценивали в тесте с трипановым синим, а апоптоз – методом проточной цитометрии клеток, окрашенных пропидия иодидом. Определяли значения индекса цитотоксичности и апоптотического индекса в культурах при действии вепезида или флударабина фосфата. Для статистического анализа использовали непараметрический критерий Манна-Уитни.

Результаты и выводы. Показана значительная гетерогенность цитотоксического ответа и индукции апоптоза *in vitro* при действии вепезида (5 мкмоль/л, 18 ч) или флударабина фосфата (10 мкмоль/л, 48 ч), причем цитотоксический эффект при действии этих препаратов превалирует над индукцией апоптоза. В культурах мононуклеаров периферической крови больных, у которых не была подтверждена моноклоновость лимфопротективного процесса, при действии исследуемых препаратов не выявляли ни гибели клеток, ни индуцированного апоптоза. Средние значения индекса цитотоксичности варьировали от 1,05 до 2,56, а апоптотического индекса – от 0,15 до 0,37. Разброс этих показателей был весьма значительным, что свидетельствует об исключительно индивидуальном характере чувствительности клеток различных больных В-ХЛЛ. При этом в отдельных случаях показатели цитотоксичности или индукции апоптоза были гораздо выше средних значений. Индуцированная цитотоксическими химиопрепаратами гибель злокачественных лимфоидных клеток при В-ХЛЛ не всегда базируется на механизмах апоптоза, что согласуется с данными о дефектности систем реализации апоптоза в этих клетках.

М.Т. Зангиева, М.А. Барышникова, Е.В. Игнатьева, В.С. Косоруков, А.А. Матюшин, А.Ю. Барышников

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ИММУНОЛИПОСОМАЛЬНЫХ КОНСТРУКЦИЙ, НАГРУЖЕННЫХ ДОКСОРУБИЦИНОМ

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Актуальность. Активную доставку в опухолевую клетку обеспечивают прикрепленные к ним МКА или лиганды, которые связываются с опухолевыми клетками и не взаимодействуют со здоровыми тканями. С помощью присоединения лиганд к поверхности липосомы есть возможность селективно доставлять препарат непосредственно к опухолевой клетке. В качестве лиганд используют МКА, одноцепочечные антитела, пенетрирующие в клетку пептиды. Стерически стабилизированные иммунолипосомы оказывают наибольший цитотоксический эффект, чем обычные липосомы. Одним из объектов, активно изучаемых в последние годы в качестве новой противоопухолевой мишени, является рецептор эпидермального фактора роста (EGFR).

Цель работы. Разработать иммунолипосомальные конструкции, нагруженные доксорубицином, направленные против HER2-рецептора.

Материалы и методы. Яичный фосфатидилхолин (PC), полиэтиленгликоль (mPEG-2000-DSPE) фирмы Lipoid, холестерин (Chol) (Sigma), rNp-PEG₃₀₀₀-липид, Доксорубицина гидрохлорид субстанция (Докс) серия 010809 ФСП 42-2570-06 (ОАО ОНОПБ, Россия), гуманизированные моноклональные анти-Her2/neu антитела (ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина», лаборатория трансгенных препаратов).

Результаты. Иммунолипосомы получали методом обращения фаз. Липидную пленку гидратировали 125 mM сульфата аммония. Для конъюгации к поверхности липосом векторных лигандов в состав липосом вводили п-нитрофениловый эфир полиэтиленгликоль-липидного конъюгата, встраиваемого в липосомы за счет липидной составляющей. Очистку иммунолипосомальных дисперсий от не включившегося в везикулы цитостатика и не присоединившихся МКА проводили методом гель-фильтрации. На выходе из колонки получали фракцию очищенных иммунолипосом, которую затем подвергали спектрофотометрическому анализу. Содержание цитостатика в иммунолипосомальной конструкции проводили с использованием рабочего стандартного образца доксорубицина при длине волны 252±2 нм. С помощью реакции иммунофлуоресценции показана способность иммунолипосом специфически связываться с рецептором HER2, экспрессированным на клетках линии SK-BR-3.

Вывод. Разработана технология получения иммунолипосом с высокой (до 80 %) степенью загрузки препарата.

М.К. Иванов², С.Е. Титов^{1,2}, Е.В. Карпинская³, С.П. Шевченко³,
М.К. Тагирова⁴, И.Ф. Жимулев¹, Н.Н. Колесников¹

ВОЗМОЖНОСТИ ТЕХНОЛОГИИ *NANOSTRING*

ДЛЯ МИКРОРНК-ПРОФИЛИРОВАНИЯ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹ИМКБ СО РАН, Новосибирск

²ЗАО "Вектор-Бест", Кольцово

³МБУЗ г. Новосибирска ГКБ №1, Новосибирск

⁴ОСП НИКИ педиатрии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва

Задача исследования. Оценка возможностей технологии NanoStringTM для выявления микроРНК-биомаркеров разных типов опухолей щитовидной железы (ЩЖ), а также сравнение получаемых оценок с результатами, полученными методом ОТ-ПЦР-РВ (обратная транскрипция и ПЦР с детекцией в реальном времени).

Материалы и методы. В образцах ткани разных типов новообразований ЩЖ, хирургически удаленных у 8 пациентов (контроль – прилежащая условно-нормальная ткань), одновременно оценивали содержание 800 микроРНК при помощи NanoString.

Результаты и выводы. Для 249 микроРНК была показана достоверная экспрессия в тех или иных пробах. Для 103 микроРНК погрешность измерения не превышала 50 %. Достоверным считали изменение содержания таких микроРНК в опухоли относительно контроля более чем в 3 раза. Для 39 из них было показано повышение содержания как минимум в одной опухоли, для 27 – снижение. Содержание ни одной микроРНК не повышалось при зобе. Содержание 3 микроРНК всегда было повышено при раке: miR-221, -222 и -34. Для 16 микроРНК содержание в этих же пробах было оценено при помощи ОТ-ПЦР-РВ. Результаты, полученные при помощи двух методов, в целом продемонстрировали высокую корреляцию, однако некоторые микроРНК неэффективно выявлялись одним из них, хотя надежно определялись вторым. Некоторые микроРНК, выявленные методом NanoString в ходе эксперимента, оказались перспективными либо как маркеры для подтверждения злокачественности и типирования новообразований ЩЖ, либо для нормализации результатов количественных оценок при ПЦР-анализе.

А.В. Ивлиев, Н.А. Наволокин, Г.А. Афанасьева, Д.А. Мудрак, С.А. Тычина, М.О. Воронков, Н.В. Корчаков, Н.В. Полуконова, А.Б. Бучарская, Г.Н. Маслякова

АКТИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ

НА ФОНЕ ПЕРЕВИВАЕМОГО РАКА ПЕЧЕНИ РС-1

ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ

ФЛАВОНОИДСОДЕРЖАЩЕГО ЭКСТРАКТА КУКУРУЗЫ АНТОЦИАНОВОЙ

ГБОУ ВПО СГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава РФ, Саратов

Цель исследования. Изучить влияние флавоноидсодержащего экстракта антоциановой формы кукурузы обыкновенной (*Zea mays* L.) на активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в эксперименте *in vivo* на лабораторных крысах с перевитым раком печени.

Материалы и методы. Сырье собрано на территории Саратовской обл., экстракт кукурузы получен авторским способом (Патент РФ №2482863). Дизайн эксперимента: животные с перевитым раком печени РС-1 были разделены на 3 группы. Первая – группа сравнения с опухолью без воздействия экстракта. Вторая и третья группы – экспериментальные с однократным пероральным и однократным внутримышечным введением экстракта кукурузы антоциановой через 1 месяц после перевивки опухоли. Животных выводили из эксперимента путем декапитации, анализ содержания гидроперекисей липидов и молекул средней массы (МСМ) проводили в сыворотке крови стандартными спектрофотометрическими методами.

Результаты и выводы. При пероральном введении экстракта кукурузы отмечали уменьшение МСМ и гидроперекисей липидов в отличие от группы сравнения, что свидетельствует о подавлении активности ПОЛ и выраженности аутоинтоксикации. При внутримышечном способе введения не происходит достоверное снижение исследуемых показателей. Требуется дальнейшее детальное изучение активности ПОЛ при введении флавоноидов у животных с перевитыми опухолями.

Е.В. Игнатьева¹, Е.В. Санарова¹, И.В. Ярцева¹, Р.В. Арустамян², З.С. Шпрах¹

РАЗРАБОТКА ПОКАЗАТЕЛЯ «РАСТВОРЕНИЕ» ДЛЯ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ СЕКОИЗОЛАРИЦИРЕЗИНОЛА

¹ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина», Москва

²ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России

Тест «Растворение» является одним из важных критериев качества твердых пероральных лекарственных форм и необходим для оценки качества готового лекарственного средства, его стабильности.

Задачей настоящего исследования явилась разработка теста «Растворение» для отечественного лекарственного средства «Секоизоларицирезинол, капсулы 100 мг», предлагаемого для лечения эстрогенозависимых опухолей.

Материалы и методы. Образцы лекарственного препарата (ЛП) «Секоизоларицирезинол, капсулы 100 мг» (СЕКО-); фармацевтическая субстанция СЕКО- (ЗАО «БиоХимМак СТ», Москва), прибор для определения растворения (аппарат II, «лопастная мешалка») спектрофотометрия.

Результаты и обсуждение. Показатель «Растворение» подразумевает количество фармацевтической субстанции (ФС), высвобождающейся в стандартных условиях за определенный промежуток времени в среду растворения из твердой дозированной лекарственной формы. Определение проводили с помощью аппарата для проверки растворимости ERWEKA серии 700 (аппарат II, лопастная мешалка). Количество СЕКО-, перешедшего в среду растворения, определяли спектрофотометрически. На первом этапе исследования в качестве среды растворения использовали воду, 0,1 М и 0,2 М растворы хлористоводородной кислоты, фосфатный буферный раствор (рН 6,8), в разных экспериментах изменяя скорость перемешивания, объем растворителя и время отбора пробы. Однако количество вещества, перешедшего в среду растворения, оказалось недостаточным и не удовлетворяло требованиям ГФ (не менее 75 %). В дальнейшем для увеличения выхода СЕКО- в среду растворения использовали 0,2 % раствор твина-80 в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты. При объеме растворителя 900 мл в течение 2 часов в раствор высвобождалось более 75 % СЕКО-. Следует отметить, что результат теста «Растворение» для исследованного ЛП зависит от влажности гранулята.

Выводы. Разработанная методика теста «Растворение» позволяет оценить качество лекарственной формы «Секоизоларицирезинол, капсулы 100 мг».

Авторы выражают благодарность ООО «Медресурс» (г. Москва) за финансовую поддержку исследований

Ю.П. Истомин, Т.П. Артемьева, Н.А. Петровская, А.Н. Мазуренко, Д.А. Церковский

НЕПОСРЕДСТВЕННЫЕ И ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ БАЗАЛЬНОКЛЕТОЧНОГО РАКА КОЖИ С ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОМ ФОТОЛОН

РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, Минск, Беларусь

Цель исследования. Оценка эффективности фотодинамической терапии (ФДТ) с фотолоном у пациентов с базальноклеточным раком кожи (T1–2N0M0).

Материалы и методы. Методом ФДТ было пролечено 130 пациентов (156 очагов). Средний возраст – 56,9±9,2 года. Фотолон вводили внутривенно в дозах 2,0 – 2,5 мг/кг. Через 2,5 – 3 ч на аппаратах LD680-2000 («Биоспек», РФ, λ=670 нм) и УПЛ ФДТ («ЛЕМТ», РБ, λ=660±5 нм) проводили сеанс фотооблучения. Параметры: экспозиционная доза – 50 – 200 Дж/см²; плотность мощности – 0,1 – 0,52 Вт/см²; число полей – 1 – 5 и время облучения – 3 – 20 минут.

Результаты и выводы. При контрольном обследовании через 1 – 3 месяца полная регрессия достигнута у 119 (91,5 %) пациентов, частичная – у 8 (6,2 %), стабилизация – у 2 (1,5 %) и продолжение роста – у 1 (0,8 %). Объективный терапевтический эффект достигнут у 97,7 % пациентов, лечебный ответ – 99,2 %. В сроки наблюдения от 6 до 60 месяцев локальный рецидив выявлен в 10,8 % случаев. Побочных реакций и осложнений не отмечено. Полученные результаты позволяют говорить о методе ФДТ как о высокоэффективной опции лечения данной патологии.

Ю.П. Истомин, Т.П. Артемьева, Н.А. Петровская, А.Н. Мазуренко, Д.А. Церковский

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ С ФОТОЛОНОМ В ЛЕЧЕНИИ ДИСSEМИНИРОВАННОЙ МЕЛАНОМЫ КОЖИ

РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, Минск, Беларусь

Цель исследования. Оценка непосредственных результатов фотодинамической терапии (ФДТ) с фотолоном у пациентов с внутрикожными метастазами меланомы кожи.

Материалы и методы. Методом ФДТ было 50 пациентов с внутрикожными метастазами меланомы кожи (>500 очагов). Средний возраст – 60,7±10,4 лет. Фотолон вводился внутривенно в дозах 1,5 – 3,0 мг/кг. Курс лечения включал от 1 до 8 сеансов (суммарно 125 сеансов). Фотооблучение осуществляли через 3 – 4 часа после введения ФС на аппаратах «УПЛ-ФДТ» (ЛЕМТ, λ=660±5 нм) и «ФДТ-лазер» (НАН Б, λ=660 нм) в экспозиционной дозе 300 – 400 Дж/см² с плотностью мощности – от 0,2 до 0,9 Вт/см². Число полей – 3 – 17 и время облучения – 5 – 22 минуты. Период наблюдения составил 2 – 23 месяца.

Результаты и выводы. При контроле через 1 – 3 месяца полная регрессия отмечена у 10 (20 %) пациентов, частичная – у 28 (56 %), стабилизация – у 7 (14 %), прогрессирование – у 5 (10 %) пациентов. Объективный терапевтический эффект достигнут у 76 % пациентов, лечебный – у 90 %. Побочных реакций и осложнений выявлено не было. Применение ФДТ в паллиативных целях позволяет уменьшать объем опухоли и улучшать качество жизни данной категории пациентов.

А.А. Калинина, Л.М. Хромых, И.А. Кудрявцев, Д.Б. Казанский

АНТИМЕТАСТАТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ РЕКОМБИНАНТНОГО ЦИКЛОФИЛИНА А ЧЕЛОВЕКА *ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина», Москва*

Актуальность. Циклофилин А (ЦфА, 18 кДа), присутствует в крови, тканевых жидкостях и молоке человека, является хемоаттрактантом для стволовых клеток костного мозга и ранних предшественников различных ростков дифференцировки, способствует дифференцировке и созреванию дендритных клеток, осуществляет контроль баланса между Т-хелперами первого и второго типов, подавляя активность Т-хелперов 2.

Цель работы. Оценка влияния рекомбинантного циклофилина А человека (рЦфА) на экспериментальное метастазирование карциномы легкого Льюис (LLC) мышей.

Материалы и методы. Первичную опухоль удаляли на 8-й день после прививки мышам C57BL/6 клеток LLC. Белок вводили в дозе 200 мкг/мышь в течение 7 дней до или после удаления опухолевого узла. Оценка эффективности рЦфА проводили на 21 день после удаления опухоли. Выраженность метастазирования в легких оценивали макроскопически по 5-бальной системе.

Результаты. Введение рЦфА приводило к значительному снижению степени поражения легкого (с 5 баллов в контроле до 2 в опытной группах). Торможение образования метастазов составило 68% и 37% при введении белка до или после удаления опухолевого узла соответственно.

Вывод. Введение мышам рЦфА до удаления опухолевого узла приводит к более значительному снижению образования метастазов у мышей с LLC по сравнению с послеоперационным введением белка.

А.А. Калинина, Л.М. Хромых, И.А. Кудрявцев, Д.Б. Казанский

ВЛИЯНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ЦИКЛОФИЛИНА А ЧЕЛОВЕКА НА РЕЦИДИВ ОПУХОЛИ *ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина», Москва*

Актуальность. Циклофилин А (ЦфА) – белок, 18 кДа, обладает изомеразной активностью. Существует во внутриклеточной и секреторной формах. Продуцируется различными типами клеток при инфицировании организма и оксидативных стрессах, является провоспалительным фактором, привлекающим клетки иммунной системы в очаг воспаления. Участвует в патогенезе сепсиса, диабета, вирусных, аутоиммунных, аллергических, кардиологических и онкологических заболеваний.

Цель работы. Оценка влияния рекомбинантного ЦфА человека (рЦфА) на возникновение послеоперационных рецидивов карциномы легкого Льюиса (LLC) у мышей C57BL/6.

Материалы и методы. Первичную опухоль удаляли на 8-й день после прививки. Оценка эффективности рЦфА проводили на 21 день после удаления узла. Белок вводили в дозе 200 мкг/мышь в течение 7 дней до или после операции. При оценке результатов определяли: 1) частоту рецидивов; 2) среднюю продолжительность безрецидивного периода.

Результаты. Введение рЦфА приводило к значительному снижению частоты рецидивов LLC (с 90 % в контроле до 20 % и 50 % при введении белка в течение 7 дней до или после удаления опухолевого узла соответственно). Продолжительность безрецидивного периода составила 9 дней в контроле и 18 и 14 дней в указанных опытных группах животных.

Выводы. Введение мышам рЦфА до удаления опухолевого узла приводит к значительному снижению частоты рецидивов опухоли и увеличению безрецидивного периода.

С.А. Калужный, Е.А. Дудко, С.Д. Коломийцев, Н.О. Выхлянцева, Р.Ю. Раманускайте, А.С. Тюляндина, Т.А. Богуш

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ БЕЛКА **RRM1 МЕТОДОМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОФЛУОРИМЕТРИИ**

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Актуальность. RRM1 – это одна из двух субъединиц рибонуклеотидредуктазы, катализирующей превращение рибонуклеотидов в дезоксирибонуклеотиды. В экспериментальных исследованиях показано, что высокая экспрессия RRM1 ассоциирована с резистентностью к гемцитабину, который применяется при терапии рака яичников, однако клинические данные об экспрессии RRM1 единичны и получены при использовании полуколичественных методов иммуногистохимии и полимеразной цепной реакции. В настоящем исследовании проведена строго количественная оценка частоты, уровня и интенсивности экспрессии RRM1 в ткани рака яичников иммунофлуоресцентным методом, разработанным авторами, с использованием проточной цитофлуориметрии.

Материалы и методы. Проанализировано 44 хирургических образца серозной аденокарциномы яичников (первичные и рецидивные опухоли тех же пациентов). Одноклеточные суспензии инкубировали с первичными (ab81085) антителами в течение ночи и затем 1,5 часа с вторичными (DyLight650, ab98510) антителами. Показатели экспрессии RRM1 анализировали с помощью программы FlowJo статистическим методом Колмогорова-Смирнова. Интенсивность экспрессии RRM1 – отношение специфической флуоресценции к контрольному показателю (только вторичные антитела): высокая – отношение $\geq 2,5$, низкая – $< 2,5$ усл. ед. Уровень экспрессии RRM1 – количество специфически флуоресцирующих клеток относительно общего количества: высокий – количество специфически окрашенных клеток в опухоли $\geq 40\%$, низкий – $< 40\%$.

Результаты. 1. Экспрессия RRM1 выявлена в 100% первичных опухолей со значительными отличиями в уровне экспрессии маркера у разных пациентов (средний показатель $47,2 \pm 16,4\%$, минимум – 28 %, максимум – 73 %). 2. Высокий уровень RRM1 выявлен в 67 % (средний показатель $57,4 \pm 10,5\%$), низкий – в 23 % случаев (средний показатель $29,9 \pm 7,4\%$). 3. Средняя интенсивность экспрессии RRM1 в группе с высоким уровнем маркера составила $4,4 \pm 2,4$ усл. ед., в группе с низкой экспрессией – $1,9 \pm 0,3$ усл. ед. 4. Показатели экспрессии RRM1 были одинаковы в первичных и рецидивных опухолях, независимо от молекулярного фенотипа первичной опухоли.

Заключение. Полученные данные о низкой экспрессии RRM1 приблизительно в 25 % исследованных опухолей согласуются с клиническими наблюдениями об эффективности гемцитабина у 25 – 30 % больных раком яичников, что свидетельствует о возможной клинической предиктивной значимости показателей экспрессии RRM1 в отношении гемцитабина.

Поддержано грантами РФФИ (13-04-01004-а, 15-04-06991-а, 14-04-31734-мол-а) и программой РАН (ФИМТ-2014-205).

П.М. Канаев, О.Н. Дерябина, Н.А. Плотникова

ХАРАКТЕРИСТИКА ПАТОГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ, ИНДУЦИРОВАННЫХ БЕНЗ(А)ПИРЕНОМ ОПУХОЛЕЙ МЯГКИХ ТКАНЕЙ У МЫШЕЙ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ МЕКСИДОЛА И МЕЛАТОНИНА

ФГБОУ ВПО «МорГУ им. Н.П. Огарева», Медицинский институт, Саранск

Цель исследования. Изучение воздействия мелатонина и мексидола на динамику патоморфологических изменений в тканях мезенхимального гистогенеза.

Задачи исследования. Изучение воздействия мелатонина и мексидола на динамику патоморфологических изменений в мягких тканях.

Материалы и методы. Эксперимент был проведен на 120 мышах. Мыши были разделены на 4 группы: 3 опытные группы по 30 животных, 30 животных составили контрольную группу. Животным всех четырех групп однократно вводился канцероген – БП. Животные 1-й группы получали мелатонин в дозе 2 мг/л. Животные 2-й группы – мексидол в дозе 0,1 мг/кг. Животные 3-й группы – мексидол в дозе 0,1 мг/кг и мелатонин в дозе 2 мг/л. Животные 4-й группы составили контрольную группу.

Результаты. Микроскопически опухоль на фоне совместного применения мелатонина и мексидола характеризовалось выраженным полиморфным клеточным составом: наличием веретеновидных клеток, фибробластоподобных и гистиоподобных элементов, нередко с формированием характерных «муаровых» структур. В отдельных случаях встречались ксантомные клетки, гигантские многоядерные клетки типа Тудона и типа остеокластов. Таким образом, на фоне применения мелатонина и мексидола в опухолевых узлах, индуцированных бенз(а)пиреном у мышей формировались типичные (фиброзные) формы злокачественной гистиоцитомы, представленные фибробластоподобными клеточными формами. Характерными были также признаки клеточного атипизма и полиморфизма. Однако, в строении опухолевой ткани не были выявлены очаги ослизнения и миксоматоза, участки некроза и кровоизлияний встречались в единичных случаях. Данные морфологические признаки являются проявлением вторичных изменений в опухолевой ткани. Уменьшение или отсутствие подобных вторичных изменений свидетельствует, на наш взгляд, о снижении элементов опухолевой прогрессии.

Выводы. Совместное использование изучаемых препаратов в условиях экспериментального опухолевого роста мягких тканей сопровождается положительной патоморфологической динамикой, что проявляется уменьшением числа случаев плоскоклеточного рака кожи до 20 %, (в контроле – 50 %), а также снижением митотического индекса на 48 % и 40 % соответственно.

О.Л. Канделинская¹, Е.Р. Грищенко¹, Л.Н. Николаевич², Н.А. Шуканова³, М.М. Молчан³, Е.А. Девина⁴, А.Д. Таганович⁴, Е.П. Вашикевич⁵, Н. Савицкене⁶, А. Савицкас⁶

ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩАЯ И ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ СУБСТАНЦИЙ ЛЕКТИНОВ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ ФЛОРЫ БЕЛАРУСИ

¹Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

³Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

⁴Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

⁵РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Беларусь

⁶Литовский университет наук о здоровье, Каунас, Литва

Цель и задачи исследований. Получение и исследование субстанций фитолектинов (СФЛ).

Материалы и методы. Из цетрарии исландской, эхинацеи пурпурной и чистотела большого получены СФЛ: Cetraria Islandica agglutinin – CIA; Echinacea purpurea agglutinin – EPA; Chelidonium majus agglutinin – CMA. Иммуностимулирующее действие (ИД) СФЛ оценивали по их влиянию на функциональную активность легочных макрофагов крыс, ЕК- и Т-клеток человека. Цитостатическое действие (ЦД) определяли по влиянию СФЛ на пролиферацию клеток глиомы крыс линии С6; по активности фермента ацетилхолинэстеразы в клетках рака молочной железы человека (РМЖ).

Результаты. По ИД в отношении легочных макрофагов крыс исследуемые СФЛ располагались так: EPA>CIA>CMA; по ЦД на трансформированные клетки - CMA>CIA>EPA. Показано, что ИД и ЦД полученных СФЛ сохранялось в составе капсул: наибольшим ИД в отношении ЕК- и Т-клеток человека обладали EPA- и CIA-капсулы, а по ЦД в отношении клеток РМЖ – CMA- и CIA-капсулы. Выявлены дозозависимые эффекты ЦД CMA-капсул на рост клеток рака легких линии A549 *in vitro*. В экспериментах *in vivo* на мышах получены предварительные данные о противоопухолевом действии CMA-капсул в отношении саркомы Lewis, которое выражалось в уменьшении площади метастазов в легких и интенсивности в них опухолевого процесса.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют о фармакологической значимости лектинов эхинацеи пурпурной, цетрарии исландской и чистотела большого и необходимости исследований молекулярных механизмов их иммуностимулирующего и цитостатического действия.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта БРФФИ № Б13ЛИТ-008.

В.Н. Капинус, М.А. Каплан, Е.В. Ярославцева-Исаева, И.С. Спиченкова

ОСОБЕННОСТИ ФДТ БАЗАЛЬНО-КЛЕТОЧНОГО РАКА КОЖИ ВОЛОСИСТОЙ ЧАСТИ ГОЛОВЫ

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф.Цыба – филиал ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр им. П.А.Герцена, Обнинск

Актуальность. Кожа волосистой части головы имеет ряд особенностей: большое количество волосяных фолликулов, сальных желез; слабо развита подкожная жировая клетчатка; мышцы свода черепа имеют обширную сухожильную часть, рыхло связанную с надкостницей и тесно срастающуюся с кожей; лимфоотток осуществляется по лимфатическим сосудам в затылочные, сосцевидные, околоушные, лицевые, поднижнечелюстные, подбородочные лимфатические узлы (при неопластических процессах на волосистой части головы возможно увеличение лимфатических узлов в перечисленных областях). Указанные особенности необходимо учитывать при лечении новообразований данной локализации.

Цель исследования. Оценка эффективности и анализ клинических особенностей ФДТ у больных базально-клеточным раком кожи (БКРК) волосистой части головы.

Материалы и методы. ФДТ была проведена 89 больным БКРК, локализованным в области волосистой части головы. Для проведения ФДТ использовался фотосенсибилизатор хлоринового ряда в дозе 1,1 – 1,6 мг/кг веса тела, световая энергия составила 100 – 300 Дж/см².

Результаты. После ФДТ полная регрессия опухолевых очагов была у 73 из 89 больных (82,0 %), частичная регрессия – у 13 (14,6 %) пациентов, стабилизация – у 3 (3,4 %) человек. Отмечены следующие особенности ФДТ данной локализации: более выраженный болевой синдром во время ФДТ, продолжительные болевой и отечный синдром после ФДТ, частое развитие фолликулитов, что требует назначения антибактериальных средств, более продолжительный период отторжения некротических тканей и, соответственно, эпителизации, обнажение подлежащих костных структур (особенно после лечения рецидивов заболевания), очаговая алопеция в зоне рубца, регионарные лимфадениты.

О.В. Кеца, И.А. Шмараков, О.А. Петрик

АКТИВНОСТЬ СУПЕРОКСИДИДСМУТАЗЫ КАРЦИНОМЫ ГЕРЕНА КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИЕ ω -3 ПНЖК

Черновицкий национальный университет, Черновцы, Украина

Актуальность. Перспектива применения противоопухолевых препаратов существенно зависит от исследования клеточных и молекулярных механизмов, лежащих в основе развития рака. Ранняя коррекция этих механизмов полиненасыщенными жирными кислотами (ПНЖК), могла бы гипотетически предотвратить развитие и прогресс онкозаболеваний.

Цель работы. Изучение влияния ω -3 ПНЖК на активность супероксиддисмутазы (СОД) в митохондриальной фракции карциномы Герена.

Результаты. Показано, что период интенсивного роста опухоли сопровождается повышением активности митохондриальной СОД карциномы Герена, что может лежать в основе резистентности к противоопухолевым препаратам. Предварительное введение ω -3 ПНЖК приводит к снижению активности СОД митохондрий опухоли в логарифмическую фазу онкогенеза и как следствие к накоплению активных форм кислорода (АФК). Повышая генерацию АФК в опухолевых клетках, ω -3 ПНЖК, тем самым, усиливают апоптоз через экспрессию p53, p21 и Bax, с одновременным торможением экспрессии антиапоптотического протеина Bcl-2. Установленные изменения могут способствовать снижению мембранного потенциала митохондрий со следующим высвобождением цитохрома c в цитозоль, запуская апоптоз через каспаза-3- и каспаза-9-зависимый путь. Кроме того, ПНЖК через экспрессию p53 и p21 могут привести к блокированию клеточного цикла трансформированных клеток.

Выводы. Таким образом, торможение опухолевого роста с участием ω -3 ПНЖК может реализоваться через прооксидантно-антиоксидантную систему, что лежит в основе поиска нетоксических альтернативных способов терапии рака.

М.П. Киселева, З.С. Штрах, Л.Г. Деженкова, Л.М. Борисова, Т.Д. Миникер, Л.В. Эктова, А.А. Штиль, З.С. Смирнова

ДЕЙСТВИЕ ПРОИЗВОДНОГО ИНДОЛОКАРБАЗОЛОВ ЛХС-1208 НА ТОПОИЗОМЕРАЗУ I

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина», Москва

Актуальность. Производные индолокарбазолов обладают разным биологическим действием, в том числе и противоопухолевым. Важным свойством является индукция гибели опухолевых клеток в результате взаимодействия с несколькими внутриклеточными мишенями. Указанные соединения ингибируют циклинзависимые киназы, протеинкиназу C и тирозинкиназы, а также топоизомеразу I.

Цель исследования. Изучить действие производного индолокарбазолов ЛХС-1208 на активность топоизомеразы I.

Материалы и методы. Плазмиду pBR322 (суперскрученная форма ДНК) инкубировали с топоизомеразой I (1 ЕД) в присутствии ЛХС-1208 (0,5 – 40 мкМ) при температуре 30 °С, 30 мин в буфере, содержащем 35 мМ Трис-HCl (pH 8,0), 72 мМ KCl, 5 мМ MgCl₂, 5 мМ дитиотрейтола, 2 мМ спермидина и 0,1 мг/мл бычьего сывороточного альбумина. Реакцию останавливали внесением додецилсульфата натрия. В реакционную смесь добавляли протеиназу K и инкубировали 30 мин. Проводили электрофорез ДНК в 1% агарозном геле (состав буфера: 40 мМ Трис-основания, 1 мМ ЭДТА, 30 мМ ледяной уксусной кислоты) и окрашивали раствором бромистого этидия (0,5 мкг/мл).

Результаты. Топоизомераза I вызывает раскручивание плазмидной ДНК, вместо суперскрученной формы появляются открытая (ОК) и закрытая (ЗК) кольцевые формы, мигрирующие в геле медленно. В присутствии относительно низких (до 1 мкМ) концентраций ЛХС-1208 видны топоизомеры ДНК, мигрирующие быстрее. В присутствии 2,5 мкМ ЛХС-1208 образуются частично релаксированные формы ДНК, что свидетельствует о частичном снижении активности фермента. При концентрациях ЛХС-1208 ≥ 5 мкМ релаксация плазмиды отсутствует, что означает полное ингибирование топоизомеразы I.

Заключение. Установлено, что производное индолокарбазолов ЛХС-1208 в концентрациях ≥ 5 мкМ ингибирует фермент топоизомеразу I. Это свойство позволяет считать соединение перспективным кандидатом для разработки противоопухолевых препаратов класса индолокарбазолов.

М.П. Киселева, Л.М. Борисова, З.С. Шпрах, А.В. Ланцова, Е.В. Санарова, Н.А. Оборотова, Т.Д. Миникер, Л.В. Эктова, З.С. Смирнова

АНТИМЕТАСТАТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРОИЗВОДНОГО ИНДОЛОКАРБАЗОЛОВ ЛХС-1208
ФГБНУ «РОНЦ им.Н.Н.Блохина», Москва

Актуальность. Метастазирование опухоли – один из основных признаков ее злокачественности. Поэтому раннее метастазирование снижает эффективность всех известных методов терапии, применяемых при лечении больных со злокачественными опухолями. Это послужило основанием изучения антиметастатического действия ЛХС-1208.

Цель исследования. Изучение антиметастатического действия ЛХС-1208 на эпидермоидной карциноме легкого Lewis (LLC).

Материалы и методы. В опытах с перевиваемой подкожно опухолью LLC использованы иммунокомпетентные мыши-гибриды первого поколения BDF₁ (C₅₇Bl/6j × DBA/2), самцы, массой тела 18 – 22 г, а для поддержания штамма мыши-самцы линии C57Bl/6j при внутримышечной перевивке. Удаление опухолевого узла проводили на 9 день после перевивки опухоли, а на 10 день вводили ЛХС-1208 однократно внутривенно в терапевтической дозе 150 мг/кг и в дозе 125 мг/кг. Критериями оценки антиметастатического действия служили торможение роста спонтанных метастазов при подкожной перевивке в присутствии первичного опухолевого узла и на фоне удаленной опухоли (ТРМ, %) и увеличение продолжительности жизни экспериментальных животных (УПЖ, %).

Результаты. Проведенные исследования показали, что при сохраненном опухолевом узле препарат в дозе 125 мг/кг вызывает ТРМ равное 33 %, а в терапевтической дозе 150 мг/кг ТРМ=30 %. При удалении первичного опухолевого узла ЛХС-1208 в дозе 125 мг/кг оказывает ТРМ равное 28 %, а в терапевтической дозе 150 мг/кг ТРМ составляет 32 %. Равное торможение роста спонтанных метастазов установлено в контрольной группе с хирургическим удалением первичного опухолевого узла: ТРМ = 30 %. Кроме того, наблюдали незначительное увеличение продолжительности жизни мышей: УПЖ в опытных группах 5–13 %.

Заключение. Результаты исследования производного индокарбазолов ЛХС-1208 позволяют констатировать наличие слабой дозозависимой, но статистически значимой антиметастатической активности. Кроме того, полученные данные дают основание продолжить исследования по оценке антиметастатической активности ЛХС-1208 в комбинации с другими противоопухолевыми средствами.

М.В. Киселевский¹, Н.Ю. Анисимова¹, Т.Х. Тенчурин², В.Г. Мамагулашвили², С.М. Ситдикова¹,

**БИОСОВМЕСТИМОСТЬ МАТРИКСОВ ТРАХЕИ
НА ОСНОВЕ НЕТКАНЫХ СИНТЕТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ**

¹ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина», Москва

²НИЦ «Курчатовский институт», Москва

Актуальность разработки инновационных способов получения биоимплантатов трахеи и/или главных бронхов обусловлена тем, что замещение дефектов данной локализации является одной из наиболее сложных и до конца нерешенных проблем медицины.

Цель исследования. Разработка методологических подходов создания матрикса трахеи нового поколения, на основе биосовместимого полимерного ультраволокнистого материала, обеспечивающего адгезию клеток реципиента.

Материалы и методы. На основе технологии получения нетканых материалов, разработанной в НИЦ «Курчатовский институт», были созданы экспериментальные образцы матрикса трахеи из пористого ультраволокнистого материала, армированного кольцами из полиуретана. Исследование биосовместимости образцов осуществляли *in vitro* (адгезия мезенхимальных стромальных клеток (МСК), цитотоксичность и индукция гемолиза) и *in vivo* – через 3 месяца после подкожной имплантации образцов матрикса мышам линии C57Bl/6 (n=16) оценивали структуру образцов и прилегающих тканей. Общетоксическое действие матрикса оценивали по результатам гистологического исследования внутренних органов.

Результаты. Установлены отсутствие статистически достоверного токсического воздействия тестируемых образцов на клетки человека и животных *in vitro*, а также адгезия МСК к волокнам ультраволокнистого материала. У животных с имплантированными образцами матрикса трахеи в течение всего времени наблюдения не отмечалось местных и системных признаков развития реакции отторжения образцов. Матрикс трахеи интенсивно колонизировались клетками реципиента и были интегрированы в окружающие ткани.

Заключение. Проведенные испытания свидетельствуют о биосовместимости образцов матрикса трахеи. Можно предполагать, что нетканый материал, формирующий стенки матрикса будет выполнять роль депо для МСК реципиента, а армирование матрикса полиуретановыми кольцами повысит функциональность биоимплантата и даст возможность избежать применения стентов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (Соглашение № 14.604.21.0023 от 17.06.2014 г. о предоставлении субсидии, RFMEFI57614X0063).

О.В. Клименко¹, С.А. Сасов², В.В. Решетникова², Н.Н. Тотоева², В.Н. Толкачев²

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ОЧИЩЕННОЙ ФРАКЦИИ ГИДРОЛИЗУЕМЫХ ТАННИНОВ
CHAMAENERION ANGUSTIFOLIUM (L.) И *OENOTHEIN B*
НА ГЕНЕТИКУ И МОРФОЛОГИЮ КЛЕТОК KASUMI-1**

¹РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва

²ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Актуальность. Исследования последних лет показали, что макроциклические гидролизуемые эллаготаннины обладают высокой противоопухолевой активностью, представляющей интерес для практического использования в медицинской практике. Несмотря на интенсивное развитие знаний о растениях, остаются неизвестными свойства их отдельных компонентов.

Цель и задачи исследования. Изучение влияния фракций гидролизуемых таннинов растения *Chamaenerion angustifolium* (L.), а также индивидуального *Oenotherin B* на экспрессию прокаспазных генов; оценить морфологические изменения в клеточной линии Kasumi-1 острого миелоидного лейкоза, а также определить экспрессию гена и протеина иммунорегуляторного фактора FOXP3 в этих клетках в первые 24, 48 и 72 часа после добавления очищенных фракций таннинов в среду.

Материалы и методы. Для оценки влияния изучаемых таннинов на клетки острого миелоидного лейкоза нами были использованы методы ОТ-ПЦР, исследование экспрессии протеинов методом вестерн блоттинга, окрашивание образцов при помощи модифицированного метода Лейшмана-Романовского.

Результаты. В серии экспериментов *in vitro* мы получили повышение экспрессии генов Каспазы 8, Каспазы 9 и BCL2 после введения фракций таннинов *Chamaenerion angustifolium* (L.) в 2 – 3,6 раза по сравнению с контролем. Нами было получено изменение морфологических характеристик изучаемой клеточной линии после добавления в среду гидролизуемых таннинов и *Oenotherin B*. Было выявлено увеличение экспрессии гена и протеина FOXP3 уже через первые 24 часа после добавления в среду фракции макроциклических гидролизуемых таннинов и *Oenotherin B* в 2, а через 72 часа в 4,5 раза (экспрессия гена) и в 3 раза на третьи сутки (для протеина) по сравнению с контролем.

Выводы. Гидролизуемые таннины *Chamaenerion angustifolium* (L.) и *Oenotherin B* стимулируют апоптоз в клетках острого миелоидного лейкоза и изменяют экспрессию фактора иммунорегуляции FOXP3 в клетках клеточной линии Kasumi-1.

А.С. Козлов, А.А. Красновский

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ АКТИВАЦИИ КИСЛОРОДНЫХ МОЛЕКУЛ
ПРИ ИХ ПРЯМОМ ВОЗБУЖДЕНИИ ИК ЛАЗЕРНЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ**

Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва

Актуальность. Переходу кислородных молекул из основного в синглетные состояния соответствуют полосы поглощения в ближней ИК-области (765, 1070 и 1273 нм). Лазерное возбуждение этих переходов приводит к образованию реакционно-способного синглетного кислорода. Предполагают, что этот процесс может использоваться в ИК лазерной терапии рака. Для обоснования этого представления необходима информация об оптической плотности ИК полос поглощения молекул кислорода, которая определяет эффективность генерации синглетного кислорода лазерным излучением. Поскольку оптическая плотность мала и ее невозможно измерить прямыми спектрофотометрическими методами, в нашей лаборатории разработан фотохимический метод анализа, в основе которого лежит прямое возбуждение кислорода ИК диодными лазерами с последующей регистрацией образовавшегося синглетного кислорода с помощью химических ловушек синглетного кислорода. Недавно нам удалось увеличить точность анализа за счет применения нового способа математической обработки данных.

Цель работы состояла в том, чтобы применить новую методику к исследованию абсорбционных свойств молекулярного кислорода в модельных и биологических системах.

Результаты и выводы. Показано, что в тестовых неполярных органических средах с большим временем жизни синглетного кислорода, синглетный кислород заселяется при лазерном возбуждении всех указанных полос, причем соотношение максимумов полос составляет 0,13:0,05:1 соответственно. Оптическая плотность в этих максимумах линейно зависит от растворимости кислорода и молярного коэффициента поглощения. Получены значения молярных коэффициентов поглощения. Показано, что с увеличением полярности среды молярный коэффициент в полосе 1273 нм уменьшается (от ~5,3 до $1,6 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$), достигая минимума в водных системах, тогда как интенсивность полосы 765 нм в тех же условиях возрастала, достигая максимума (примерно в 1,7 раза больше) в воде. В результате, в водных системах эффективность заселения синглетного кислорода лазерами с длиной волны 1273 и 765 нм почти одинакова. Таким образом, генерация синглетного кислорода за счет прямого возбуждения кислородных молекул реально происходит в естественных системах, причем лазеры с длиной волны 1273 и 765 нм наиболее эффективны, а полоса 1070 нм мало пригодна, по крайней мере, для биологических экспериментов. Обсуждаются перспективы применения изученных эффектов.

А.В. Колаева, Т.С. Быркина, Н.Д. Олтаржевская

СНИЖЕНИЕ ИСХОДНОЙ МИКРОБНОЙ ОБСЕМЕНЕННОСТИ АЛЬГИНАТА НАТРИЯ

ООО «КОЛТЕКС», Москва

Актуальность. Научные разработки, проводимые в ООО «Колтекс», позволили создать медицинские изделия «Колегель», обладающие уникальными свойствами: пролонгированное действие и целенаправленная доставка лекарственного вещества к очагу поражения, и представляющие собой вязкие композиции на основе альгината натрия, с введенными в них различными лекарственными веществами. В соответствии с ГОСТ Р ИСО 11137-2000 материалы медицинского назначения, вводимые в полости организма и контактирующие с поврежденными тканями, должны быть стерильными.

Цель исследования. Изучение влияния радиационной стерилизации на микробиологические и реологические характеристики альгината натрия при производстве медицинских изделий «Колегель».

Задачи исследования. Основной проблемой, возникающей при производстве продукции марки «Колегель», является высокая обсеменяемость альгината натрия и, как следствие, изготавливаемых из него изделий. Поэтому основной задачей является разработка способов уменьшения микробной обсемененности данной продукции, и в обязательном порядке стерилизации.

Материалы и методы. В данной работе исследовали изменение вязкости альгината натрия методом вискозиметрии и микробную обсемененность – чашечным агаровым методом.

Результаты. Производство материала «Колегель» предусматривает финишную радиационную стерилизацию в дозе 6 кГр. Увеличение стерилизационной дозы не желательно, т.к. оно может привести к снижению вязкости гидрогеля и, как следствие, потери необходимых терапевтических свойств. Для снижения вторичной (т.е. возникающей в процессе транспортировки и хранения) микробной контаминации альгината натрия была исследована возможность его радиационного облучения (гамма-обработка, электронно-лучевая обработка). Результаты показали, что предварительная гамма-обработка альгината натрия в большей степени снижает общую микробную обсемененность альгината натрия, по сравнению с электронно-лучевой. Однако, при предварительном радиационном облучении альгината натрия дозой 6 кГр резко снижается вязкость гидрогелевой композиции, приготовленной на его основе. При финишной же стерилизации радиационным облучением дозой 6 кГр данной альгинатной гидрогелевой композиции её вязкость снижается на 99,2 % в случае электронно-лучевой обработки и на 94,8 % в случае гамма-обработки.

Вывод. Способ снижения микробной контаминации альгината натрия посредством его обработки радиационным облучением является неэффективным.

Е.Ю. Колдаева, А.В. Смирнова, А.А. Липенгольц, Е.Ю. Григорьева

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВЕТЕРИНАРНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ НАРКОТИЗАЦИИ ЖИВОТНЫХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТОМОГРАФИИ

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Цель исследования. Выбор оптимального способа наркотизации мелких лабораторных животных для проведения томографии в течение необходимого для исследования времени.

Материалы и методы. В работе использовали мышей BDF₁ и крыс Wistar. Испытывали принятые в ветеринарии препараты: Ксилазин (Ксила), 20 мг/мл, фирма Interchemie, Holland и Золетил 100, фирма Virbac, France. Мыши: путь введения – ретроорбитальный, внутрибрюшинный; дозы Ксилы – 5,0, 7,5 и 10,0 мг/кг массы тела; дозы Золетила 100 – 10 мг/кг массы тела. Крысы: путь введения – внутримышечный; дозы Ксилы – 8,0, 10,0 мг/кг массы тела; дозы Золетила 100 – 10 и 20 мг/кг массы тела. Регистрировали наличие/отсутствие фазы возбуждения, явления заторможенности, дискоординации движений, атаксии, миорелаксации, продолжительность глубокого сна. Отмечали побочные токсические эффекты.

Результаты. Введение Золетила крысам (внутримышечное) и мышам (внутрибрюшинное) в дозе 10 мг/кг обеспечивало хорошую миорелаксацию, сон через 2 – 5 минут после введения продолжительностью 30 – 40 минут. Фаза возбуждения отсутствует. Выход из наркоза быстрый и ровный. Введение Ксилы в дозе 7, 5 мг/кг мышам (внутрибрюшинно) и 8,0 мг/кг крысам (внутримышечно) позволяло в течение 5 – 7 минут достичь глубокого сна продолжительностью 1,5 – 2 часа. При введении Ксилы крысам фаза возбуждения отсутствовала, при наличии ее у мышей. Выход из наркоза постепенный.

Заключение. Для проведения томографии мелких лабораторных животных можно рекомендовать применение Ксилы (7,5 мг/кг внутрибрюшинно мышам, 8,0 мг/кг внутримышечно крысам) и Золетила 100 (10 мг/кг внутрибрюшинно мышам; 10 мг/кг внутримышечно крысам).

Н.Н. Колесников¹, С.Е. Титов^{1,2}, Е.С. Малахина³, Т.Л. Полоз⁴, С.П. Шевченко⁵, М.К. Иванов², И.Ф. Жимулев¹

МИКРОРНК ПРОФИЛИРОВАНИЕ И МУТАЦИЯ BRAF В ДИАГНОСТИКЕ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА

¹ФГБУН ИМКБ СО РАН, Новосибирск

²ЗАО "Вектор-Бест", Кольцово

³ФГБУН ИХБФМ, ЦНМТ СО РАН, Новосибирск

⁴НУЗ ДКБ на ст. Новосибирск-Главный ОАО «РЖД», Новосибирск

⁵МБУЗ ГКБ №1, Новосибирск

Создание высокоэффективных количественных надежных методов ранней диагностики злокачественных новообразований является насущной потребностью клинической онкологии. На основе профилирования экспрессии 25 микроРНК и анализа соматической мутации *BRAF* разработаны подходы молекулярного типирования новообразований щитовидной железы, позволяющие отличать доброкачественные и злокачественные поражения, и дифференцировать разные типы новообразований щитовидной железы с высокой точностью. В работе использован операционный материал от 208 пациентов и 230 цитологических препаратов тонкоигольной аспирационной биопсии от 120 пациентов. Анализ проводили с помощью ОТ-ПЦР в реальном времени, для нормировки использовали малую РНК U6. Мутацию *BRAF* V600E выявляли с помощью аллель-специфичной ПЦР-РВ. Наличие мутации гена *BRAF*, как диагностического и прогностического маркера, у пациентов с папиллярным раком ЩЖ, свидетельствует о более злокачественном течении заболевания. Распространенность мутации в Новосибирской популяции больных папиллярным раком ЩЖ составила 61,7 %. Профилирование экспрессии микроРНК в наиболее часто встречающихся опухолях щитовидной железы и анализ уровней экспрессии онкогенных и супрессорных микроРНК позволили выявить уникальные молекулярные профили для каждого патоморфологического типа новообразований и разработать статистически достоверные диагностические алгоритмы. Таким образом, показана возможность использования микроРНК в качестве молекулярных маркеров дифференциальной диагностики новообразований щитовидной желез.

О.И. Коняева, Н.Ю. Кульбачевская, Н.П. Ермакова, В.А. Чалей, И.Б., Меркулова, Т.В. Абрамова, А.В. Смирнова, Е.Ю. Колдаева, А.А. Сергеев, К.А. Серезжин, В.М. Бухман

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ОБЩЕТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА

ДЛЯ ПОЗИТРОННОЙ ЭМИССИОННОЙ ТОМОГРАФИИ ¹⁸F- ФДГ (2-¹⁸F—2-ДЕЗОКСИ-D-ГЛЮКОЗА)

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Цель исследования. Доклиническое изучение общетоксического действия диагностического препарата ¹⁸F-ФДГ на лабораторных животных.

Материалы и методы. В работе использованы животные обоего пола: 82 мыши линии BDF₁, 188 неинбредных крыс, 8 собак породы «английский бигль», 6 кроликов породы «Шиншилла» и 60 морских свинок. Дозы животным рассчитывали с учетом весовых коэффициентов, исходя из принятых доз введения человеку – 400 МБк/человека – диагностическая доза (ДД). В опытах по «острой» токсичности максимальные вводимые дозы превышали ДД в 32 раза; в опытах по «субхронической» токсичности (3-кратно, ежедневно, внутривенно) на крысах суммарные дозы соответствовали ДД, 32 ДД и 64 ДД и на собаках – ДД и 32 ДД.

Результаты. ¹⁸F- ФДГ при однократном внутривенном введении мышам и крысам самцам и самкам не вызывал гибели животных. Внешние проявления интоксикации и половые различия отсутствовали. Установлена хорошая переносимость животными ¹⁸F- ФДГ при многократном применении в дозах, превышающих ДД в 32 и 64 раза. Многократное применение ¹⁸F- ФДГ вызывало небольшие не дозозависимые изменения в периферической крови животных: увеличение или уменьшение (в 1,5 – 2 раза) количества тромбоцитов, увеличение СОЭ, снижение относительного количества лимфоцитов. У собак ¹⁸F- ФДГ вызывал недозозависимые неспецифические проявления кардиотоксичности, не подтвержденные морфологически. В почках крыс морфологически отмечены необратимые несильно выраженные очаговые деструктивные воспалительные и дистрофические изменения. У собак влияния на функциональное и морфологическое состояние почек не обнаружено. У крыс функциональных и морфологических изменений в печени и поджелудочной железе на все сроки наблюдения не выявлено. Морфологически у всех собак в печени на 30 сутки опыта отмечены умеренные дистрофические изменения. Соединение ¹⁸F- ФДГ не обладает местнораздражающим действием как на 3, так и на 15 сутки после однократного внутривенного введения кроликам. Соединение ¹⁸F- ФДГ обладает выраженными аллергизирующими свойствами. Установлено предельное содержание бактериальных эндотоксинов для соединения ¹⁸F- ФДГ – не более 17,5 ЕЭ/мл, которое было рекомендовано для внесения в проект ФСП.

Заключение. Полученные результаты по доклиническому изучению токсичности соединения ¹⁸F- ФДГ позволяют рекомендовать его для клинического применения.

О.И. Коняева, Н.Ю. Кульбачевская, Н.П. Ермакова, В.А. Чалей, И.Б. Меркулова, Т.В. Абрамова, А.А. Сергеев, К.А. Серезжин, В.М. Бухман

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ВОСПРОИЗВЕДЕННОГО МЕТОТРЕКСАТА И МЕТОТРЕКСАТА ФИРМЫ ЕБЕВЕ

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Цель исследования. Сравнительное изучение «острой» и «субхронической» токсичности нового воспроизведенного в лаборатории лекарственных форм НИИ ЭДнТО ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» противоопухолевого препарата метотрексат (МТХ-В) и метотрексата-Ебеве (МТХ-Ебеве) Ебеве Фарма, Австрия.

Материалы и методы. Исследования проведены на 80 мышах-самцах гибридах $B_6D_2F_1$ и 250 неинбредных крысах-самцах, полученных из разведения ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина». МТХ-В приготовлен в лаборатории лекарственных форм НИИ ЭДнТО ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» - концентрат для приготовления раствора для инфузий с концентрацией МТХ 100 мг в мл, во флаконах по 5 мл, серии 030213. МТХ-Ебеве – концентрат для приготовления раствора для инфузий концентрацией МТХ 100 мг в мл, в ампулах по 5 мл, серии DJ5228. Для удобства использования препараты разводили водой для инъекций до концентрации 10 мг в мл. В опытах по «острой» токсичности препараты вводили мышам однократно внутривенно в дозах от 40 до 300 мг/кг, крысам от 5 до 80 мг/кг. В опытах по «субхронической» токсичности препараты вводили внутривенно ежедневно 3-кратно в двух суммарных дозах 1,0 и 0,6 мг/кг.

Результаты исследования. При анализе данных, полученных при сравнительном изучении «острой» токсичности на мышах и крысах установлены расчетные токсические дозы МТХ-В для мышей: $LD_{10}=242$ мг/кг; $LD_{50}=298$ (256÷346) мг/кг; для крыс: $LD_{10}=20,0$ мг/кг; $LD_{50}=42,0$ (34,0÷50,0) мг/кг и МТХ-Ебеве для мышей $LD_{10}=245$ мг/кг; $LD_{50}=322$ (248 ÷ 420) мг/кг; для крыс: $LD_{10}=25,0$ мг/кг; $LD_{50}=41,0$ (34,0÷48,0) мг/кг, которые практически не отличаются друг от друга. По результатам изучения «субхронической» токсичности установлено, что МТХ и МТХ-Ебеве по показателям токсичности (клинические проявления токсичности, летальность, гематотоксичность, биомаркеры токсичности, морфометрия органов) и по результатам патоморфологического изучения практически не отличаются друг от друга.

Выводы. На основании результатов, полученных при сравнительном изучении МТХ-В и МТХ-Ебеве, установлено, что препараты практически идентичны как по показателям «острой» токсичности, так и по результатам «субхронической» токсичности.

С.С. Коробов, Е.В. Давыдов, В.Ю. Шленский

ОПЫТ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ САРКОМ МЯГКИХ ТКАНЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ.

Ветеринарная клиника «Велес-Текстильщики», «Россолимо», Москва

Введение. Саркомы мягких тканей (СМТ) – злокачественные опухоли, которые представляют определенную сложность в лечении, особенно когда новообразование инвазирует окружающие (в том числе подлежащие) ткани. Одним из основных методов лечения СМТ является оперативное удаление, но при распространенном процессе и инвазии в окружающие ткани возникают сложности при резекции опухоли и повышается риск рецидивирования, что приводит к ухудшению прогноза. С целью повышения результатов лечения таких больных нами был применен метод Фотодинамической терапии (ФДТ) в неоадьювантном режиме.

Цель исследования. Оценить возможность предоперационного применения ФДТ при лечении СМТ.

Материалы и методы. Пациенты – кошки (n=12), возраст от 5 до 15 лет, опухоли – диаметр от 4 до 10 см, плотные, бугристые, инвазивный рост в окружающие ткани. Фотосенсибилизатор – фотодитазин. Источник лазерного излучения 660 нм, мощность от 0,1 до 2 Вт.

Результаты. В предоперационном режиме применили Фотодинамическую терапию (ФДТ) с фотосенсибилизатором Фотодитазин (Хлорин Е6), в дозе 1 – 2,5 мг/кг, который вводился за 3 часа до облучения. Доза облучения составляла от 400 до 500 Дж. Перед облучением проводилась флюоресцентная диагностика. После ФДТ опухоль уменьшалась в размере и отделялась от подлежащих тканей, затем проводили оперативное удаление новообразования. Период наблюдения за пациентами составляет на данный момент от 1 месяца до 2 лет.

Выводы. Применение ФДТ в неоадьювантном режиме позволяет уменьшить размер опухоли, отделить ее от подлежащих тканей, что повышает резектабельность новообразования, увеличивает безрецидивный период и улучшает прогноз. Необходимы дальнейшие исследования в этой области.

Л.И. Корытова, Н.Д. Олтаржевская, В.П. Сокурено, И.В.Гусев, А.Д. Кузнецов

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВЫСОКОСТРУКТУРИРОВАННЫХ ДИСКОВ
НА ОСНОВЕ АЛЬГИНАТА НАТРИЯ С ДЕРИНАТОМ
И ЭКСТРАКТОМ ЧЕРНИКИ
ПРИ КОНФОРМНОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ РОТОГЛОТКИ И ПОЛОСТИ РТА**

ООО «Колетекс», Москва

ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий», Санкт-Петербург

Цель исследования. Профилактика и лечение радиоэпителиита полости рта и ротоглотки при конформной лучевой терапии опухолей головы и шеи.

Задачи исследования. Оценить эффективность высокоструктурированных дисков «Колегель-ДНК-Ч-диск» на основе альгината натрия с деринатом и экстрактом черники для профилактики и лечения лучевых реакций и осложнений слизистых дна полости рта и ротоглотки при конформной лучевой терапии.

Материалы и методы. Исследуемая группа – 28 пациентов с местнораспространенным раком орофарингеальной области использовали высокоструктурированные диски «Колегель-ДНК-Ч-диск» ежедневно с первого дня лучевого лечения за 30 – 40 минут до сеанса конформной лучевой терапии и 3 – 4 раза в день после сеанса лучевой терапии. Больной самостоятельно закладывал исследуемую форму геля в полость рта, после предварительного использования фиторастворов (полоскания). Исследуемые диски «Колегель-ДНК-Ч-диск» применяли по окончании лучевой терапии и в послелучевом периоде 2 – 3 раза в день в течение 1 месяца. Группа контроля 30 пациентов больных с аналогичной локализацией опухоли, получавшие общепринятые стандартные меры профилактики радиационного поражения слизистой орофарингеальной зоны (масляная болтушка).

Результаты. Побочные реакции, в т.ч. аллергические, при длительном приеме дисков «Колегель-ДНК-Ч-диск» не зарегистрированы ни у одного больного. Радиационное поражение слизистой дна полости рта и ротоглотки 1 – 2 степени наблюдали у 21 (75 %); радиоэпителиит 3 степени – у 6 (21,4 %); 4 степени – у 2 (3,6 %). Таким образом преобладали легкие и средние степени тяжести радиационного поражения слизистой, а частота развития тяжелого мукозита достоверно снизилась по сравнению с пациентами, получавшими общепринятые стандартные меры профилактики радиационного поражения слизистой орофарингеальной зоны.

Выводы. Использование материалов высокоструктурированных дисков «Колегель-ДНК-Ч-диск» на основе альгината натрия с деринатом и экстрактом черники у конкретной группы пациентов с первичной локализацией злокачественной опухоли в области ротоглотки и полости рта при конформной лучевой терапии обеспечило снижение частоты развития радиационного поражения слизистой, возможность эскалации суммарной очаговой дозы, уменьшение частоты перерывов в лучевом лечении, сокращение сроков восстановления слизистой в труднодоступных для лекарственных препаратов областях орофарингеальной области.

Л.И. Корытова, О.В. Корытов, Н.Д. Олтаржевская, М.О. Мясникова, Е.А. Маслюкова

**ПРИМЕНЕНИЕ МАТЕРИАЛА ГИДРОГЕЛЕВОГО НА ОСНОВЕ АЛЬГИНАТА НАТРИЯ
С Е-АМИНОКАПРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ И ЛИДОКАИНОМ
У ОПЕРАБЕЛЬНЫХ БОЛЬНЫХ РМЖ.**

ООО «Колетекс», Москва

ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий», Санкт-Петербург

Актуальность. Одним из постоянных ранних послеоперационных осложнений мастэктомии является лимфорея, связанная с механическим пересечением большого количества лимфатических сосудов различного калибра.

Цель исследования. Уменьшение числа послеоперационных осложнений, сокращение сроков и объемов послеоперационной лимфорей.

Результаты и выводы. У пациенток, перенесших оперативное вмешательство в объеме простой мастэктомии (56) средний объем кровопотери в послеоперативный период составил 100 мл, (от 50 до 150). При радикальных операциях (64 пациентки) этот показатель был выше – 150 мл (от 100 до 200). Лимфорея составила около 1500 мл за время наблюдения и в среднем оканчивалась к 12 – 15 суткам. Для пациенток, которым применялся материал гидрогелевый на основе альгината натрия с Е-аминокапроновой кислотой и лидокаином соответствующие показатели кровопотери оказались на уровне 75 (от 50 до 100 у 21 пациентки) и 100 (50 – 150 у 38 пациенток) мл соответственно, а лимфорея составила 800 – 900 мл в течение 7 – 9 дней, после чего она прекращалась. Отмечена тенденция к сокращению сроков заживления ран и приживления кожных лоскутов на 5 – 7 дней, что было обусловлено снижением объема и продолжительности лимфорей, соответственно снизилось время нахождения в стационаре, что в свою очередь позволило продолжить необходимое противоопухолевое лечение в более ранние сроки. Так же отмечено, что снизилась степень выраженности лимостазов и степень ограничения подвижности верхней конечности в плечевом суставе в связи с формированием рубцов меньшей плотности.

Л.И. Корытова, С.Д. Иванов, В.Г. Красникова, А.В. Мешечкин, Р.М. Жабина

ИНДЕКС РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ГЛИОБЛАСТОМой ГОЛОВНОГО МОЗГА

ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий», Санкт-Петербург

Цель исследования. Улучшение результатов комбинированного лечения больных глиальными опухолями головного мозга, путем определения предиктивных маркеров ответа на лучевую терапию.

Материалы и методы. Работа основана на анализе результатов комплексного обследования и комбинированного лечения 21 пациента с первичными злокачественными новообразованиями головного мозга в ФГБУ «РНЦРХТ». По результатам гистологического исследования опухоли – глиобластома четвертой степени злокачественности. Возраст пациентов варьировал от 32 до 73 лет, в среднем – 54 лет. Опухоли локализовались в полушариях головного мозга и занимали лобную долю у 3 пациентов, височную – у 7 пациентов, теменную – у 4, две доли и более – у 7 пациентов. Индекс Карновского колебался в пределах от 70 % до 95 %. Объем хирургического лечения включал субтотальное удаление опухоли у 95 % пациентов, у 5 % пациентов была проведена только биопсия. В комплекс лечебных мероприятий входили послеоперационная лучевая и химиотерапия. При лучевой терапии суммарные очаговые дозы варьировали от 57 до 64 Гр. Лечение проводилось на фоне химиотерапии у 95 % пациентов. В связи с тем, что чувствительность к темодалу была выявлена не у всех больных, 6 (30 %) пациентов получали темодал; 5 (25 %) пациентов – ломустин с винкристином; мустофоран – 2 (10 %) пациентов; 7 (35 %) пациентов получали другие комбинации химиотерапевтических препаратов. Перед началом лечения у всех пациентов определялся индекс радиочувствительности периферической крови и, в зависимости от значения этого показателя, всех пациентов разделили на 2 группы.

Результаты. В 1-й группе (14 больных) значение индекса радиочувствительности было выше 1, что позволило отнести пациентов к радиочувствительным и ожидать более успешных результатов лечения. Во 2-й группе (7 больных) предиктор радиочувствительности был ниже 1, что указывало на возможное снижение эффективности лучевой терапии. В 1-й группе продолжительность жизни варьировала в пределах от 5 до 157 месяцев, средняя продолжительность жизни составила – 29 ± 8 месяцев; во 2-й группе – от 1 до 16 месяцев, средняя продолжительность жизни в этой группе – 9 ± 3 месяца соответственно.

Выводы. Таким образом, метод определения радиочувствительности периферической крови позволяет решить важнейшие диагностические задачи, связанные с предсказанием эффективности лучевой терапии у пациентов с первичными злокачественными опухолями головного мозга и дает возможность спрогнозировать продолжительность жизни у данной категории больных.

С.Н. Корякин, С.Е. Ульяненко, В.А. Ядровская

ИССЛЕДОВАНИЕ ЗОЛОТОСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ ДЛЯ ФОТОН-ЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ

МРНЦ им. А.Ф. Цыба, Обнинск

Цель исследования. Оценка поглощенной дозы в опухоли за счет воздействия вторичного излучения, образующегося при взаимодействии золота с рентгеновским излучением, и изучении динамики накопления в тканях лабораторных животных золотосодержащих соединений на основе гиалуроновой кислоты.

Материалы и методы. Расчеты поглощенной дозы в опухоли проводили с использованием программы MCNP5. Динамику накопления в тканях лабораторных животных соединений с концентрацией золота 20 мг в 1 мл изучали на мышах-самцах (CBA × C57Bl6) массой 20 – 22 г с привитой в правую заднюю лапку меланомой B-16. Определение содержания золота в образцах проводили с использованием оптического эмиссионного метода на приборе ICP-OES.

Результаты и выводы. Анализ результатов показал, что на всем интервале исследования золото по объему опухоли распределено не равномерно. Для двукратного увеличения поглощенной дозы за счет фотон-захватных событий необходима концентрация золота 10 мг/г ткани. Такое высокое содержание золота в опухоли в наших исследованиях получено не было. При 4-кратном внутриопухолевом введении удалось достичь концентрации золота 1 мг/г, что позволит получить увеличение поглощенной дозы около 10 %.

Исследование поддержано грантом РФФИ 14-44-03084.

Е.Н. Кособокова, А.И. Щербаков, М.В. Пинюгина, М.Т. Зангиева, В.С. Косоруков

АНТИТЕЛА КАК ВЕКТОРНАЯ МОЛЕКУЛА ДЛЯ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

При введении традиционных лекарственных форм препаратов (капсулы, таблетки, инъекции и др.) не удается избежать колебаний концентраций действующего вещества в биологических жидкостях. Отсутствие локальной направленности и краткосрочная сохранность препарата в месте действия (в микроокружении злокачественного образования), необходимость использования высоких доз заставляет исследователей искать и разрабатывать системы адресной доставки и длительного действия лекарственных средств и биологических молекул. Такая система предполагает снижение дозы лекарственного препарата и увеличение интервала между введениями, что повлечет за собой уменьшение токсичности, повышение переносимости пациентом и усиление терапевтического эффекта.

В качестве векторных молекул могут выступать моноклональные антитела. Разработанные нами гуманизированные МКА Фитогермаб против Her2/neu антигена были успешно конъюгированы с липосомами. Полученные иммунолипосомы нагружались доксорубицином. В качестве модели для изучения и цитотоксического действия использовались клетки линии SK-BR-3, экспрессирующие антиген Her2/neu.

Анти-Her2/neu-иммунолипосомы специфически связывались с 95 % антиген⁺ клеток SK-BR-3 и не реагировали с антиген⁻ клетками. В МТТ тесте анти-Her2/neu-иммунолипосомы оказывали цитотоксическое действие на клетки SK-BR-3. Эффект был дозозависимым.

Следующим направлением текущих исследований стала разработка модели доставки биологической молекулы (например, цитокинов). Мы разработали новую конструкцию слитного рекомбинантного белка (СРБ) на основе гуманизированные МКА против Her2/neu антигена и интерферона- α -2b человека. Такой слитный белок совмещает функции обоих компонентов: МКА к Her2 обеспечат направленную доставку и блокирование рецептора Her2, а цитокиновый компонент реализует собственное биологическое действие в зоне микроокружения опухоли. Достижение искомого результата позволит оценить перспективность создания рекомбинантных терапевтических белков на основе МКА, слитных с цитокиновым доменом для Her2 экспрессирующих опухолей. При получении таких белков будет использована разработанная нами ранее относительно простая, безопасная и малозатратная технология производства МКА к Her2 из биомассы транзитивно трансфицированных растений (*Nicotiana benthamiana*), адекватная генно-инженерная комбинация МКА и других биологически активных доменов. Оценка биологических эффектов полученного СРБ будет проведена в сравнении с немодифицированными аналогами.

Л.В. Кострюкова, О.М. Ипатова, В.Н. Прозоровский, Н.В. Медведева, Е.Г. Тихонова

ИЗМЕНЕНИЕ КОЖНОЙ ФОТОТОКСИЧНОСТИ ХЛОРИНА Е6 ПРИ ЕГО ВВЕДЕНИИ В ФОСФОЛИПИДНЫХ НАНОЧАСТИЦАХ

ИБМХ, Москва

Актуальность. Одним из новых методов, показавшим свою перспективность в лечении и диагностики онкозаболеваний, является фотодинамическая терапия (ФДТ). Известно, что успех этого метода определяется выбором фотосенсибилизатора (ФС), обеспечивающего не только высокую селективность накопления препарата в опухоли, но и низкую фототоксичность, проявляющуюся в виде ожогов кожных покровов вызванных не выведенными из организма остатками ФС.

Материалы и методы. В ИБМХ разработана новая лекарственная форма хлорина Е6, включенного в фосфолипидные наночастицы, размером до 30 нм, как систему транспорта (Хлорин-НФ). Для характеристики препарата нами была проведена оценка его остаточной фототоксичности при облучении участков кожи бедра здоровых мышей. В предварительных экспериментах было установлено, что оптимальный интервал между введением ФС (в дозе 5 мг/кг) и проведением сеанса ФДТ составляет 3 часа.

Результаты. Фототоксичность характеризовали измерением объема отека и временем его сохранения после облучения. При облучении через 3 часа после введения Хлорина-НФ и «свободной» субстанции время сохранения отека, индуцированного ожогом кожи из-за присутствия в ней остаточных количеств ФС, было одинаковым как для препарата, так и для субстанции и составляло $3,6 \pm 0,8$ суток. При облучении через 3 часа после введения Хлорина-НФ и «свободной» субстанции время сохранения отека было одинаково и составило $3,6 \pm 0,8$ суток. Однако через сутки после облучения объемы отека у животных, которым вводили Хлорин-НФ были на 19 % выше по сравнению с контролем (без ФС), а в опыте со «свободной» субстанцией на 37 %.

Выводы. Кожная фототоксичность остаточных количеств ФС при введении препарата Хлорин-НФ почти в 2 раза меньше, чем при использовании «свободной» субстанции.

Н.В. Красногорова¹, Д.В. Новиков¹, А.В. Калугин¹, Е.Ю. Конторицкова², В.В. Новиков¹, Ж.А. Казацкая¹
**ОНП rs396991 ГЕНА CD16a АССОЦИИРОВАН
С ВЫСОКИМ РИСКОМ РАЗВИТИЯ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА**

¹ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород

²НижГМА, Нижний Новгород

Актуальность. Белок FcγRIIIa (CD16a) относится к семейству рецепторов Fcγ, которые играют важную роль в реализации воспаления. В гене CD16a обнаружен ОНП rs396991 (V176F). Известно, что носители аллели T(F) плохо отвечают на терапию rituximab (анти-CD20) при различных заболеваниях, включая онкологические, в отличие от носителей аллели G(V).

Цель работы. Оценка распределения генотипов среди здорового населения и больных колоректальным раком.

Материалы и методы. В работе использовали периферическую кровь 78 лиц без онкозаболеваний и 100 больных колоректальным раком. ОНП rs396991 определяли методом ПЦР.

Результаты. Частоты аллелей у лиц без онкологических заболеваний составили 64 % и 36 % для G и T соответственно. Генотип GG выявлен у 41 человека (52,56 %), GT – 18 человек (23,08 %), TT – 19 человек (24,36 %). Частоты аллелей у больных колоректальным раком составили 15 % и 85 % для G и T соответственно. Генотип GG был обнаружен у 13 человек (13,00 %), GT – 5 человек (5,00 %), TT – 82 человека (82,00 %).

Выводы. Таким образом, аллель T(F) встречается у больных колоректальным раком в 2,5 раза чаще ($\chi^2 = 59$; $p < 10^{-10}$) и может рассматриваться в качестве аллели риска (OR = 9,7; 95% CI: 5,8 – 16,1). Разработанный тест может быть использован в качестве прогностического при назначении терапии rituximab.

Е.В. Кузнецкая, О.С. Тимошенко, Н.И. Соловьева

АПФ ПРИ КАРЦИНОМЕ ШЕЙКИ МАТКИ

ИБМХ, Москва

Актуальность. В настоящее время в число систем организма, вовлеченных в процесс канцерогенеза, внесена ренин-ангиотензиновая система (РАС). Локальные РАС обнаружены и в широком спектре опухолей человека. При опухолевой прогрессии наблюдается активация локальных опухолевых РАС, что выражается в повышенном образовании ангиотензина II (АП) под действием ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) и экспрессии рецепторов АП типа 1.

Цель работы. Сравнительное исследование активности АПФ в образцах плоскоклеточной карциномы шейки матки и в образцах морфологически нормальных тканей, прилегающих к опухоли.

Материалы и методы. Активность АПФ определяли по расщеплению специфического субстрата Z-Phe-His-Leu. Работа проведена на 9 парных образцах.

Результаты и выводы. Сравнение активности АПФ в образцах опухолей с активностью АПФ в образцах прилегающей к опухоли ткани показало, что в образцах опухоли активность АПФ в 70 % случаев была существенно повышена (от 30 % до 300 %). В 20 % случаев активность АПФ была выше в образцах прилегающей к опухоли ткани, 10 % случаев – существенных различий не наблюдалось. Обнаруженная нами повышенная активность АПФ в опухолевой ткани подтверждает участие АПФ в развитии опухолевой прогрессии при плоскоклеточной карциноме шейки матки. Предполагается, что это может прогнозировать ухудшение исхода заболевания.

С.А. Кузнецов, Л.Т. Мамедова, В.М. Сафронова, И.Ж. Шубина, М.В. Киселевский

ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК (МНК)

В ОТНОШЕНИИ АУТОЛОГИЧНЫХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ (РЯ)

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина», Москва

Задачи исследования. В работе изучали цитотоксическую активность лимфоцитов больных РЯ в отношении аутологичных опухолевых клеток.

Материалы и методы. МНК выделяли на градиенте фиколла (1,077 г/см³) из периферической крови больных РЯ (n=5). МНК инкубировали в полной культуральной среде (ПКС) RPMI-1640 при 37 °C, 5% CO₂ в течение 5 сут. Из образца опухолевой ткани получали опухолевые клетки РЯ, которые культивировали в ПКС. Цитотоксичность МНК оценивали с помощью МТТ-теста при соотношении Э/М (эффекторы/мишени, клетки РЯ и К-562) 1:1, 1:2, 1:5.

Результаты. Были получены краткосрочные культуры (5 – 6 пассажей, жизнеспособность до 4 мес.) клеток РЯ с различной морфологией, что соответствовало различным типам заболевания РЯ по клиническому диагнозу. После краткосрочной инкубации цитотоксичность МНК составила: 40 – 55 %, 50 – 60 %, 66 – 80 % против клеток РЯ и 43 – 60 %, 57 – 64 %, 68 – 85 % против К-562 (при Э/М 1:1, 1:2, 1:5, соответственно). Ранее было показано, что без предварительной инкубации НК-активность МНК не превышает 40 – 45 % (при Э/М=1:5).

Выводы. Цитотоксическая активность МНК в отношении аутологичных опухолевых клеток и клеток линии К-562 повышается при краткосрочном культивировании в стандартных условиях. Возможно, это связано с увеличением численности макрофагов и активации лимфоцитов продуцируемыми цитокинами.

О.С. Кузнецова, А.В. Таллерова, С.В. Никитин, Л.П. Коваленко

**ЭФФЕКТЫ СНК-411 НА ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ
В МОДЕЛИ ПЕРЕВИВАЕМОЙ LLC У МЫШЕЙ**

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Цель исследования. Оценка влияния нового противоопухолевого производного 5-оксипиримидина СНК-411, ранее показавшего в экспериментах ингибирование роста опухоли LLC и цитостатический эффект в отношении линии K-562, на содержание цитокинов в модели LLC у мышей C57Bl/6.

Материалы и методы. Взвесь опухолевых клеток LLC имплантировали мышам согласно общепринятой методике. СНК-411 в дозах 25 и 50 мг/кг вводили через 48 часов после инокуляции опухоли в течение 7 дней. Мультиплексное исследование концентраций Th1/Th2 10 plex цитокинов в сыворотке крови мышей проводили на проточном цитометре. Сбор сыворотки у животных проводили путем декапитации на 9 сутки развития LLC. Статистическую обработку данных проводили с помощью непарного t-критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. В сыворотке крови мышей на 9 сутки развития опухоли регистрировали значимое увеличение содержания IL-4 в 3,5 раза: IL-4, $614,8 \pm 95,9$ пг/мл по сравнению с $175,0 \pm 65,9$ пг/мл в контроле. В группах животных с имплантированной LLC, получавших СНК-411 в дозах 25 и 50 мг/кг, выявлено значимое снижение содержания IL-4 в 4,0 и 3,6 раза, IL-2 в 1,4 и 1,2 раза и IL-6 в 2,7 и 1,6 раза соответственно.

Выводы. Результаты, полученные в настоящей работе, раскрывают один из возможных механизмов противоопухолевой активности СНК-411, связанный со снижением продукции IL-4, коррелирующим с подавлением роста карциномы легкого Lewis и увеличением продолжительности жизни мышей.

Н.Ю. Кульбачевская, О.И. Коняева, Н.П. Ермакова, В.А. Чалей, А.А. Сергеев, К.А. Серезжин, В.М. Бухман

**«СУБХРОНИЧЕСКАЯ» ТОКСИЧНОСТЬ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА
НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНОГО ИНДОЛОКАРБАЗОЛА НА КРЫСАХ.**

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Актуальность. Лекарственное средство на основе производного индокарбазола (ЛХС-1208) показало высокую противоопухолевую активность в эксперименте при рекомендованной эффективной терапевтической разовой дозе (ЭТД) для мышей – 25 мг/кг пятикратно (суммарная доза 125 мг/кг).

Цель исследования. Изучение «субхронической» токсичности ЛХС-1208 на крысах.

Материалы и методы. Работа проведена на 40 здоровых неинбредных беспородных крысах самцах, полученных из разведения ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина». Препарат (серии 110414 и 120414) растворяли в воде для инъекций до получения рекомендованной концентрации – 3,0 мг/мл, и вводили внутривентрально ежедневно 15-кратно в трёх дозах, рассчитанных исходя из максимально возможно введенного объема, соответствующего дозе 100 мг/кг, полученной в опытах по «острой» токсичности на крысах при внутривентральном применении, увеличенной и уменьшенной в 2 раза соответственно: суммарная доза 200 мг/кг, разовая доза 13,3 мг/кг; суммарная доза 100 мг/кг, разовая доза 6,7 мг/кг; суммарная доза 50 мг/кг, разовая доза 3,3 мг/кг. Срок наблюдения за животными – 30 суток после последнего введения.

Результаты. Установлено, что ЛХС-1208 при ежедневном внутривентральном применении в течение 15 дней в трех исследованных дозах (суммарные дозы 200 мг/кг, 100 мг/кг и 50 мг/кг) не вызывал гибели животных, не оказывал влияния на общее состояние животных, не вызывал внешних проявлений токсичности, не изменял поведенческие реакции животных, не вызывал изменений показателей периферической крови животных, не оказывал влияния на функциональное состояние печени, почек и поджелудочной железы. Показано, что ЛХС-1208 при ежедневном внутривентральном применении в течение 15 дней в трех исследованных дозах (суммарные дозы 200 мг/кг, 100 мг/кг и 50 мг/кг) вызывал недозозависимые изменения на ЭКГ крыс: увеличение интервалов PQ и QT, понижение вольтажа зубца R и выпадение зубца R (нарушение сердечного ритма), что свидетельствует о нарушении электрической проводимости. Эти изменения могут расцениваться как признаки кардиотоксичности.

Заключение. На основании данных по изучению «субхронической» токсичности ЛХС-1208 на крысах препарат рекомендован для дальнейшего изучения.

Н.Ю. Кульбачевская, О.И. Коняева, Н.П. Ермакова, В.А. Чалей, А.А. Сергеев, К.А. Серезжин, В.М. Бухман
**«ОСТРАЯ» ТОКСИЧНОСТЬ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА
 НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНОГО ИНДОЛОКАРБАЗОЛА (ЛХС-1208)
 НА МЕЛКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ.**

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Цель исследования. Изучение «острой» токсичности нового, разработанного в ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» противоопухолевого препарата ЛХС-1208 на мелких лабораторных животных (мыши, крысы) при двух путях введения.

Материалы и методы. Работа проведена на 276 здоровых мышах линии BDF₁, полученных из питомника «Столбовая» и 100 здоровых неинбредных беспородных крысах, полученных из разведения ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина». Препарат серии 020913 растворяли в воде для инъекций до получения рекомендованной концентрации – 3,0 мг в 1 мл. Мышам ЛХС-1208 вводили внутривенно в диапазоне доз от 35 до 175 мг/кг, крысам – от 50 до 125 мг/кг; внутривенно мышам – от 50 до 200 мг/кг, крысам – от 60 до 100 мг/кг. Дозы препарата от 100 до 200 мг/кг мышам и от 80 до 125 мг/кг крысам разделяли на 2 – 3 введения с интервалом 2 – 3 часа (максимально возможные объемы при фиксированной концентрации).

Результаты. Изучена «острая» токсичность ЛХС-1208 при однократном внутривенном и внутривенном применении в диапазоне доз на мышах и крысах самках и самцах. Установлено отсутствие половых отличий для мелких лабораторных животных при однократном внутривенном и внутривенном применении. При применении ЛХС-1208 в фиксированной концентрации и максимально возможных объемах при внутривенном применении мышам и при внутривенном и внутривенном применении крысам гибели животных не наблюдалось, в связи с этим расчетные токсические дозы не получены. Гибель мышей при применении ЛХС-1208 при внутривенном применении наступала на 2 – 4 сутки на фоне сосудистых нарушений. Расчетные токсические дозы ЛХС-1208 при внутривенном применении мышам самкам и самцам практически одинаковы: для мышей-самок ЛД₅₀ – 143 (134÷170) мг/кг; для мышей самцов ЛД₅₀ – 143 (136÷159) мг/кг. У мышей и крыс, получавших ЛХС-1208 внутривенно во всех дозах, наблюдалось дозозависимое снижение массы тела, по сравнению с изменениями массы тела контрольных животных. У мышей и крыс, получавших лекарственное средство на основе производного индокарбазола внутривенно, изменений массы тела животных по сравнению с контрольными животными не наблюдалось.

Заключение. На основании данных по изучению «острой» токсичности ЛХС-1208 на мелких лабораторных животных препарат рекомендован для дальнейшего изучения.

А.А. Липенгольц^{1,2}, Е.Ю. Григорьева¹, А.В. Смирнова¹, Е.Ю. Колдаева¹, А.А. Черепанов^{1,2}, В.Н. Кулаков²
ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА ВИСИПАСТ

¹ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

²ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна, Москва

Актуальность. Висмут является самым тяжелыми стабильным элементом с порядковым номером Z= 83. Поскольку вероятность взаимодействия рентгеновского излучения с атомами различных химических элементов пропорциональна Z⁵, то использование висмута в препаратах способно обеспечить максимальную эффективность бинарной лучевой терапии при лечении онкологических заболеваний.

Цель и задачи исследования. Сравнительное изучение острой токсичности нового препарата для бинарной лучевой терапии Висипаст.

Материалы и методы. Препарат Висипаст представляет собой 0,5 М водный раствор натриевой соли комплекса висмута с диэтилентриаминопетауксусной кислотой. Препарат сравнения – Дипентаст® (0,5 М водный раствор натриевой соли комплекса гадолиния с диэтилентриаминопетауксусной кислотой). В исследовании были использованы мыши BDF обоих полов с массой тела 21 – 22 грамма. Использовали 2 пути введения – внутримышечное и подкожное. Дозы введения препарата: 1,25 мМ/кг, 2,5 мМ/кг, 3,75 мМ/кг, 5 мМ/кг, 6,25 мМ/кг, 7,5 мМ/кг, 8,75 мМ/кг, 10 мМ/кг. Количество животных в группе – 6 особей.

Срок наблюдения за животными – 14 дней. Критериями оценки «острой» токсичности служили: число павших животных и сроки их гибели, клиническая картина интоксикации и патологические изменения в тканях и внутренних органах. Расчет токсических доз проводили с использованием метода пробит-анализа AnalystSoft Inc., Biostat. Пробит-анализ – метод Финни (Логнормальный закон распределения)

Результаты и выводы. Показано, что при внутримышечном введении LD50 препарата Висипаст составила 4,10±0,44 мМ/кг для самок и 4,06±0,44 мМ/кг для самцов, а при подкожном введении 6,00±0,58 мМ/кг и 5,81±0,57 мМ/кг соответственно. Токсичность препарата Висипаст удовлетворяет требованиям бинарной лучевой терапии, однако он является более токсичным, чем препарат сравнения Дипентаст® (15,20±1,4 мМ/кг и 17±1,54 мМ/кг при внутримышечно и подкожном введении соответственно).

А.А. Липенгольц^{1,2}, А.А. Черепанов^{1,2}, Е.Ю. Григорьева¹, И.Н. Шейно², В.Н. Кулаков²

**ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ПРЕПАРАТОВ
ДЛЯ БИНАРНОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ**

¹ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

²ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна, Москва

Бинарная лучевая терапия представляет собой разновидность лучевой терапии, использующая для формирования необходимого распределения поглощенной дозы в мишени специальный препарат, содержащий в своем составе химический элемент, взаимодействующий с внешним излучением с большей вероятностью, чем элементы, составляющие обычную биологическую ткань, такие как углерод, кислород, азот, водород и т.д. Такое преимущественное взаимодействие приводит к локальному увеличению поглощенной дозы внешнего ионизирующего излучения в области локализации такого препарата, что позволяет создавать в мишени, содержащей препарат, опухоцидную величину поглощенной дозы при толерантной величине поглощенной дозы в окружающих нормальных тканях. Эффективность бинарной лучевой терапии во многом зависит от соотношения концентрации используемого препарата в опухоли и в окружающих нормальных тканях. К настоящему моменту попытки создать препарат, способный избирательно накапливаться в опухолевых клетках в количествах, необходимых для бинарной лучевой терапии – не увенчались успехом. Однако обеспечение необходимого соотношения препарата в опухолевых и нормальных тканях при бинарной лучевой терапии возможно не только за счет физиологических свойств опухолевых клеток, но и за счет морфологических особенностей опухоли, как-то нарушение гематоэнцефалического барьера при опухолях мозга и гиперваскуляризация определенных видов опухолей. Многие виды опухолей представляют собой обширные участки некротизированных тканей, сквозь которые проходят многочисленные кровеносные сосуды, окруженные сравнительно тонким слоем живых делящихся опухолевых клеток. Таким образом, для таких видов опухолей возможно применение бинарной лучевой терапии с внеклеточными препаратами, не обладающими собственной тропностью к опухоли, но малотоксичными и способными циркулировать в крови в течение времени, необходимого для проведения облучения внешним ионизирующим излучением. Наши ранее проведенные исследования с гадолиниевым контрастным препаратом для магнитно-резонансной томографии, а также экспериментальные работы зарубежных исследователей с йодными рентгеноконтрастными препаратами и наночастицами золота показывают высокую эффективность бинарной лучевой терапии с внеклеточными препаратами при их системном введении при лечении отдельных видов опухолей.

М.М. Лукина^{1,2}, И.Н. Дружкова¹, В.В. Дуденкова^{1,2}, М.В. Ширманова¹, Е.В. Загайнова^{1,2}

**IN VITRO ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ КОФАКТОРОВ
В ОПУХОЛЕВЫХ И НОРМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ МЕТОДОМ
ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ С ВРЕМЕННЫМ РАЗРЕШЕНИЕМ**

¹ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава России, Н.Новгород

²ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Н.Новгород

Актуальность. Известно, что опухолевые клетки имеют гликолитический метаболизм, который способствует их выживаемости и пролиферации.

Целью работы. Разработка методики анализа метаболических кофакторов НАДН и ФАД с помощью микроскопии временного разрешения FLIM в опухолевых и нормальных клетках in vitro.

Материалы и методы. Исследование проводили на опухолевых линиях HeLa Kyoto, HT29 и HCT116, CT26 и фибробластах человека и мыши. Время-разрешенные изображения получали на лазерном сканирующем микроскопе LSM710 (Carl Zeiss, Германия) с опцией FLIM (Becker&Hickl, Германия).

Результаты. В ходе исследования подобраны параметры регистрации времен жизни флуоресценции НАДН и ФАД в клетках, получены кривые затухания флуоресценции и выполнен анализ коротких и длинных компонент, а также их вкладов. Выявлены различия во временах жизни флуоресценции кофакторов в опухолевых и нормальных клетках, обусловленные различным состоянием и содержанием изучаемых молекул, что вероятно связано с особенностями энергетического метаболизма и микроокружения. Проведено предварительное исследование метаболических изменений в опухолевых клетках под действием химиотерапии.

Заключение. Разработанная методика представляет интерес для изучения особенностей метаболизма опухолевых клеток и их ответа на лечение.

М.Н. Макарова, Л.М. Обухова, Е.И. Ерлыкина, Т.Н. Горшкова
**ВЗАИМОСВЯЗЬ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЙ ПОДВИЖНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ
 С БИОХИМИЧЕСКИМИ ПАРАМЕТРАМИ ПЛАЗМЫ КРОВИ
 ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ**

ГОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава РФ, Нижний Новгород

Актуальность. Электрофоретическая подвижность эритроцитов (ЭФПЭ) – интегральный показатель состояния мембран, характеризующий гомеостаз организма. Показано изменение ЭФПЭ крови при различных заболеваниях, однако возможность применения того параметра для ранней диагностики злокачественных новообразований на сегодняшний день не исследована.

Цель работы. Изучение ЭФПЭ при злокачественных новообразованиях эпителиальных тканей и их связи с биохимическими параметрами плазмы крови.

Материалы и методы. Изучена ЭФПЭ крови 42 больных злокачественными новообразованиями эпителиальных тканей, контрольную группу составили 20 практически здоровых лиц. Измерение ЭФПЭ производили методом микроэлектрофореза. Определение белковых фракций плазмы крови, содержания холестерина, триацилглицеролов, ЛПОНП, ЛПНП, ЛПВП, концентрации глюкозы, гликированного гемоглобина, макроэлементов проводили на анализаторе «КонеЛаб 20/20i» (Финляндия). Содержание С-пептида, иммунореактивного инсулина оценивали методом иммунохемилюминисценции на анализаторе «Liaison» (Италия). Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ BIOSTAT.

Результаты. При онкологических заболеваниях ЭФПЭ была снижена относительно нормы ($1,75 \pm 0,04$ мкм·см/В·с) более, чем в 2 раза (на 59 %) ($0,72 \pm 0,12$). При проведении корреляционного анализа в общем массиве биохимических показателей, включающих параметры онкологических больных и практически здоровых людей, было выявлено только две статистически значимых взаимосвязи ЭФПЭ: с уровнем иммуноглобулина М ($r = -0,425$) и содержанием фосфора ($r = -0,642$) и кальция ($r = 0,390$) в плазме крови. При определении коэффициента корреляции Пирсона отдельно для выборок данных здоровых людей и онкологических больных также было показано, что для данных параметров взаимосвязь имеет одинаковый характер. При осуществлении корреляционного анализа отдельно для каждой из выборок было показано, что для здоровых людей ЭФПЭ связано с большинством белковых фракций: α 1глобулинов ($r = 0,480$); α 2 ($r = -0,410$); β ($r = -0,449$). Для ЭФПЭ больных злокачественными новообразованиями эпителиальных тканей таких значимых взаимосвязей выявлено не было. Напротив, у онкологических больных ЭФПЭ статистически достоверно связана с уровнем иммуноглобулина G ($r = -0,430$), чего не наблюдается для здоровых людей. У онкологических больных выявлены значимые взаимосвязи ЭФПЭ с уровнем натрия ($r = -0,351$), калия и ($r = 0,400$) и магния ($r = -0,420$), чего не выявлено в контрольной группе.

Выводы. Значительное снижение электрофоретической подвижности эритроцитов крови при злокачественных опухолях эпителиальных тканей обусловлено рядом специфических нарушений биохимических параметров плазмы крови при данной патологии и может служить интегральным скрининговым методом для ранней диагностики злокачественных новообразований.

Н.А. Максимова, Л.Г. Сергостьяни, М.Г. Ильченко, М.И. Курьишова
**ЗНАЧЕНИЕ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ИССЛЕДОВАНИЯ (УЗИ)
 НА ЭТАПАХ СКРИНИНГА ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ДНЕЙ ПРОФИЛАКТИКИ
 ОНКОЗАБОЛЕВАНИЙ КОЖИ (В РНИОИ)**

ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России, Ростов-на-Дону

Задача исследования. Для уточнения степени распространенности процесса при опухолях кожи был проведен ретроспективный анализ данных комплексного УЗИ с применением режимов цветового, энергетического доплеровского картирования 66 пациентов, направленных из поликлиники РНИОИ при проведении дней профилактики онкозаболеваний кожи.

Материалы и методы. Всего было произведено 198 УЗИ, включающих УЗИ органов брюшной полости и забрюшинного пространства, мягких тканей, регионарных лимфоузлов. Возраст пациентов 30 – 75 лет. Исследования проводились на аппаратах экспертного и среднего класса с использованием линейных датчиков, работающих в диапазоне 7,5 – 15 МГц, и конвексных датчиков 3,5 – 5,5 МГц.

Результаты. У 1 пациента (1,5 %) было выявлено метастатическое поражение печени, у 8 пациентов (12,2 %) регистрировалось увеличение регионарных лимфоузлов, из них у 3 (37,5 %) воспалительного характера, у 5 (62,5 %) метастатическое поражение лимфоузлов. В ходе проведения УЗИ была выявлена сопутствующая патология: диффузные изменения поджелудочной железы у 24 пациентов (36,3 %), гепатомегалия, жировой гепатоз у 12 (18,1 %), конкременты желчного пузыря у 4 (6,2 %), кисты печени у 4 (6,2 %), гемангиомы печени у 2 (3,0 %), полипы желчного пузыря у 1 (1,5 %), липомы мягких тканей у 2 (3,0 %).

Заключение. Таким образом, УЗИ является информативным, неинвазивным, вспомогательным методом диагностики, позволяющим клиницистам-онкологам *ex tempore* получить дополнительную информацию при проведении «дней профилактики онкозаболеваний кожи» и определить тактику дальнейшего ведения и индивидуальный прогноз заболевания.

Н.А. Максимова, А.С. Егорова, М.Г. Ильченко, М.Н. Дурицкий

РОЛЬ УЗ ДИАГНОСТИКИ В ВЫЯВЛЕНИИ ОНКОПАТОЛОГИИ ОРГАНОВ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА.

ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России, Ростов-на-Дону

Цель и задачи исследования. Задачами ультразвуковой диагностики (УЗИ) органов брюшной полости (ОБП) являются выявление первичного опухолевого очага, метастатического поражения органов, а также сопутствующей патологии.

Материалы и методы. С целью ранней диагностики абдоминальной патологии было выполнено УЗИ ОБП 212 пациентам в рамках проведенного «Дня профилактики онкологических заболеваний желудочно-кишечного тракта» в РНИОИ. Исследования проводились на аппаратах экспертного и среднего класса с использованием конвексных датчиков, работающих в диапазоне 3,5 – 5,5 МГц.

Результаты. Объемное образование брюшной полости было выявлено у 1 больного (0,5 %), у 1 пациента признаки диссеминации по брюшине (0,5 %), доброкачественные образования печени – кисты и гемангиомы – у 5 (2,4 %) и 6 (2,8 %) пациентов соответственно, полипы желчного пузыря были выявлены у 4 пациентов (1,9 %), диффузные изменения поджелудочной железы у 84 больных (39,6 %), гепатомегалия и жировой гепатоз у 71 пациента (33,4 %), конкременты желчного пузыря у 19 больных (9 %), спленомегалия у 2 пациентов (0,9 %), без патологии – 19 человек (9 %).

Вывод. Таким образом, УЗИ является информативным, вспомогательным методом в диагностике абдоминальной патологии.

Т.Ф. Маливанова

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛЕЙ (TNF α) И РМЖ

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Актуальность. Фактор некроза опухолей (TNF α) – это многофункциональный цитокин, который принимает участие во всех этапах опухолевого роста (от инициации до прогрессирования заболевания) и ассоциирован с рядом онкологических заболеваний. Считается, что в высоких концентрациях он способен вызывать некроз опухоли, тогда как в низких концентрациях – пролиферацию опухолевых клеток. В силу этого, в онкологии разрабатываются и применяются препараты как на основе TNF α , так и анти-TNF α . Поскольку известно, что полиморфизм промоторной области гена фактора некроза опухолей TNF α регулирует уровень эндогенной экспрессии этого цитокина, актуальным является изучение влияния полиморфизма гена TNF α на предрасположенность к РМЖ и на прогноз заболевания.

Материалы и методы. Методом аллель-специфической ПЦР и ПЦР-ПДРФ нами были проанализированы сайты одонуклеотидных замен -239(G/A)TNF и -308(G/A)TNF у 516 больных РМЖ и 226 женщин контрольной группы.

Результаты и выводы. Нами не обнаружено ассоциации с предрасположенностью к РМЖ, в тоже время анализ 10-летних данных указывает на влияние полиморфизма гена TNF α на общую выживаемость больных II стадией РМЖ и с рецептор-положительным статусом опухоли (РЭ+РП+). Наблюдается ассоциация с уровнем индекса пролиферации (Ki-67), наличием отдаленных метастазов (M1) и степенью выраженности депрессии у больных РМЖ. Сделано предположение, что полиморфизм гена TNF α оказывает влияние 1) на реализацию собственного противоопухолевого действия эндогенного TNF; 2) влияет на индивидуальную чувствительность к стандартной терапии (в частности, к гормонотерапии); 3) генотипирование по сайтам одонуклеотидных замен -238(G/A)TNF и -308(G/A)TNF может быть использовано для индивидуализации применения иммуномодуляторов в терапии РМЖ.

И.А. Мамичев, Т.А. Богуш, Е.А. Дудко, А.Б. Равчеева, А.В. Конухова, Б.Е. Полоцкий

TUBB3 КАК ВОЗМОЖНЫЙ МАРКЕР МАЛИГНИЗАЦИИ

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Актуальность. Бета-тубулин, структурный белок микротрубочек, представлен в организме человека семью изоформами. Одной из этих изоформ является бета-III тубулин (TUBB3), который не встречается в большинстве здоровых тканей организма за исключением нейронов, эмбриональных тканей и клеток Сертоли, но зачастую экспрессируется в солидных опухолях.

Цель работы. Проверка гипотезы авторов о том, что экспрессия TUBB3 в окружающей опухоль морфологически нормальной ткани легкого возможна и свидетельствует о местной распространенности опухоли.

Материалы и методы. Иммунофлуоресцентным методом с использованием проточной цитофлуориметрии, разработанным в лаборатории, проведено сравнение экспрессии TUBB3 в ткани немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) и в морфологически нормальной ткани легкого, прилежащей к опухоли. Одноклеточные суспензии инкубировали с первичными (ab7751) антителами в течение ночи и затем 1,5 часа с вторичными (ab98729) антителами, конъюгированными с DyLight650. Показатели экспрессии TUBB3 анализировали с помощью программы FlowJo статистическим методом Колмогорова-Смирнова. Всего проанализировано 40 хирургических биопсийных образцов тканей. Образцы по уровню экспрессии TUBB3 были разделены на 3 группы: высокий – количество специфически окрашенных клеток в опухоли ≥ 40 %, низкий – < 40 %, фоновый/нулевой – < 20 %.

Результаты. Во всех случаях экспрессия TUBB3 в ткани НМРЛ превышала экспрессию этого белка в прилежащей нормальной ткани легкого. Экспрессия TUBB3 выявлена в 82 % образцов НМРЛ (средний показатель составил $44,9 \pm 14,4$ % исследованных клеток). Высокий ($53,7 \pm 7,7$ %) и низкий ($29,0 \pm 8,1$ %) уровни экспрессии TUBB3 выявлены в 53 % и 29 % опухолей соответственно. В морфологически нормальной ткани легкого экспрессия TUBB3 детектируется лишь в 39 % исследованных образцов, причем во всех этих случаях уровень экспрессии TUBB3 был низким со средним показателем $29,0 \pm 8,1$ %.

Выводы. Сравнительная оценка экспрессии TUBB3 в ткани немелкоклеточного рака лёгкого, а также в нормальной ткани органа, окружающей первичный опухолевый очаг в легком, демонстрирует клиническую значимость этого белка как прогностического маркера метастатического потенциала и местной распространенности немелкоклеточного рака лёгкого.

Исследование поддержано грантами РФФИ (№№13-04-01004-а, 12-04-00028-а, 14-04-31734-мол-а) и грантом РАН (FIMT-2014-205).

Е.А. Маслюкова, Л.И. Корытова, С.В. Одинцова, А.А. Поликарпов, Р.М. Жабина

**ВНУТРИАРТЕРИАЛЬНАЯ ХИМИОТЕРАПИЯ И ЛУЧЕВАЯ ТЕРАПИЯ
У БОЛЬНЫХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

ФГБУ «РНЦРХТ», Санкт-Петербург

Актуальность. Воспалительный (инфильтративно-отечный) рак составляет приблизительно 5 % всех случаев РМЖ.

Цель исследования. Повышение эффективности комбинированного химиолучевого лечения больных воспалительным РМЖ, с применением химиоэмболизации внутренней и наружной грудных артерий, с последующей радикальной лучевой терапией и химиотерапией.

Материалы и методы. За период 2000 – 2014 г. у 72 больных воспалительной формой рака молочной железы произведено комбинированное лечение, включающее системную и внутриартериальную химиотерапию, облучение. Рентгеноваскулярные вмешательства осуществляли путем эмболизации или путем химиоэмфузии в грудные артерии. Контрольную группу составили 89 пациенток.

Результаты и выводы. Из исследовательской группы 21 пациентов были прооперированы, в гистологических образцах в семи случаях обнаружены опухолевые клетки, в 14 случаях опухолевые клетки не выявлены. В группе прооперированных больных, у которых в послеоперационном материале не обнаружены опухолевые клетки, выживаемость была статистически выше, чем в группе, где сохранялись опухолевые клетки в гистологических образцах (Gehans test, $p < 0,05$). В сравнении с контрольной группой выживаемость больных, которым выполнена ангиография и химиоэмболизация (химиоинфузия) с последующей радикальной лучевой терапией была статистически выше (Gehans, Cox's test, $p < 0,05$).

Е.А. Маслюкова, А.В. Бондаренко, Л.И. Корытова, Е.М. Обухов, С.И. Заброда, О.В. Корытов

**СОВРЕМЕННАЯ КОНФОРМНАЯ ЛУЧЕВАЯ ТЕРАПИЯ
В КОМБИНИРОВАННОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

ФГБУ «РНЦРХТ», Санкт-Петербург

Цель исследования. Сравнительный анализ результатов дозо-объемного распределения на мишень и критические структуры (сердце и легкие) у больных РМЖ при проведении конформной лучевой терапии.

Материалы и методы. В исследование включены 78 пациенток РМЖ, у которых проводилась конформная лучевая терапия на аппарате PRECISE. У 42 – использовались плавающие поля между верхним фигурным полем и тангенциальными полями, в контрольной группе у 36 больных – холодная стыковка. Оценку дозо-объемного распределения оценивали по следующим показателям: V10 для сердца, V18 для ипсилатерального легкого, процентная доза на PTVdvh для МЖ, подмышечных, надключичных и подключичных лимфоузлов.

Результаты. Дозо-объемные ограничения V10 на сердце составили 0 – 10 % в группе 2 и 0 – 8 % в группе 1 у больных с правосторонней локализацией (Мсредняя=1,7 % и 1,8 % соответственно). У больных с левосторонним РМЖ V10 варьировал от 10 – 35 % – 1 группа и 12 – 39, Мср=20,4 % и 24,3 %. V18 на ипсилатеральное легкое 23 – 42 % – 1 группа и 28 – 55 %, Мср=36,2 % и 41,8 %. Процентная доза на PTVdvh на область молочной железы составила 90 – 98 % и 88 – 95 %, Мср=94,5 % и 90,1 %.

Выводы. Наилучшее распределение дозы на мишень и меньшее повреждающее воздействие на критические органы получено при использовании плавающей стыковки между верхним фигурным полем и тангенциальными полями.

Е.А. Маслюкова, С.И. Заброда, Л.И. Корытова, К.М. Пожарисский, Г.А. Раскин, О.В. Корытов

**ЭКСПРЕССИЯ МАРКЕРА СТВОЛОВЫХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК АЛЬДЕГИДДЕГИДРОГЕНАЗЫ
ПЕРВОГО ТИПА (ALDH1) У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (РМЖ)**

ФГБУ «РНЦРХТ», Санкт-Петербург

Цель исследования. Определение экспрессии ALDH1 в опухолевых клетках у больных РМЖ.

Материалы и методы. С целью изучения экспрессии ALDH1 проводилось иммуногистохимическое исследование 83 пациентки с РМЖ (T2-4N0-3M0). Антитело к ALDH1 использовалось фирмы Epitomics, было кроличьим моноклональным (клон EP1932Y), разведение 1:200. Оценка уровня ALDH1 осуществлялась путем подсчета числа позитивных клеток относительно общего числа опухолевых клеток. Количество окрашенных клеток больше 1 % относилось к группе с высоким содержанием стволовых опухолевых клеток ALDH1 (high) – группа 1, меньше 1 % – с низким содержанием ALDH1 (low) – группа 2. В группу 1 вошли 16, в группу 2 – 67 пациенток. G1 и G2 опухоли чаще встречались в группе ALDH1(low), тогда как G3 в группе ALDH1(high), $p=0,006$.

Результаты. Не было отмечено каких-либо достоверных различий в отношении наличия или отсутствия пораженных регионарных лимфатических узлов, категории Т и индекса Ki-67 в отношении экспрессии ALDH1. У больных с высокой экспрессией ALDH1(high) время до прогрессирования и выживаемость были достоверно выше по сравнению с аналогичными показателями у пациентов с ALDH1 (low) .

Выводы. ALDH1 в клетках опухоли РМЖ – дополнительный прогностический маркер.

А.А. Машалов, С.И. Ткачев

ФОТОТЕРАПИЯ ПОСТЛУЧЕВЫХ РЕАКЦИЙ И ОСЛОЖНЕНИЙ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ
ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Актуальность. Лучевая терапия используется в лечении 20 – 80 % онкологических больных. Её проведение нередко сопровождается появлением ряда побочных патологических реакций и осложнений, негативно влияющих на её конечные результаты. С целью коррекции этих нарушений и защиты нормальных тканей используют лекарственные и нелекарственные средства (гипертермия, гипергликемия и т.д.), применение которых не всегда приносит ожидаемые результаты. При этом наибольшие трудности представляет лечение лучевой патологии внутренних органов. В этой связи в последние годы значительно возрос интерес к использованию лазерного и светодиодного излучений в лечении этой патологии.

Цель исследования. Разработка методических подходов к фототерапии лучевых повреждений внутренних органов глубокой локализации.

Материалы и методы. Радиомодифицирующее и протекторное действие лазерного излучения изучалось у онкологических больных, проходивших курс химиолучевой терапии (более 200 больных). Работа выполнена на терапевтических лазерных установках с излучением в видимом и ближнем инфракрасном диапазонах длин волн (560 нм – 1264 нм).

Результаты и выводы. По результатам проведённого клинического исследования показана целесообразность такого воздействия. Положительный клинический эффект достигнут в 80 % случаев. Впервые показана эффективность лазерного воздействия на лучевую патологию глубоко расположенных органов и тканей (пищевод, лёгкое, средостение, мочевого пузыря, простата). Результаты наблюдения убедительно показывают эффективность использования фототерапии как радиомодификатора, улучшающего конечные результаты лечения онкологических больных.

И.Б. Меркулова, Т.В. Абрамова, О.И. Коняева, Н.П. Ермакова, Н.Ю. Кульбачевская, А.А. Кузнецова, В.А. Чалей, В.М. Бухман

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ
ВОСПРОИЗВЕДЕННОГО МЕТОТРЕКСАТА И МЕТОТРЕКСАТА-ЭБЕВЕ
ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Цель исследования. Сравнительная патоморфологическая оценка внутренних органов крыс после 3-кратного ежедневного внутривенного применения метотрексата, воспроизведенного в РОНЦ (МТХ-В), и метотрексата фирмы Эбеве (МТХ-Эбеве).

Материалы и методы. Использование проведено на 70 неинбредных крысах-самцах. МТХ-В и МТХ-Эбеве вводили 3-кратно ежедневно внутривенно в суммарных дозах 0,6, 1,0 и 10 мг/кг. По 5 крыс из каждой группы усыпляли диэтиловым эфиром на 3-е и 30-е сутки после прекращения введений препаратов. На вскрытии были взяты участки внутренних органов – головного мозга, сердца, легких, печени, желудка, тонкого и толстого кишечника, почек, мочевого пузыря, селезенки, тимуса, костного мозга, надпочечников, поджелудочной железы, щитовидной железы, семенников. Взятый материал подвергали общепринятой гистологической обработке, включавшей фиксацию в 10 % формалине и окраску срезов гематоксилином и эозином. Микропрепараты анализировали в микроскопе при увеличениях 100, 400, 1000.

Результаты. МТХ-В и МТХ-Эбеве в суммарных дозах 1,0 и 10 мг/кг на 3 сутки после окончания введения вызвали сходные по характеру и глубине морфологические изменения в ряде внутренних органов. Оба препарата МТХ-В и МТХ-Эбеве вызвали дозозависимую гипоплазию гемопоэтических клеток костного мозга, деструктивно-воспалительные изменения в тонком кишечнике, признаки торможения сперматогенеза в семенниках, а в дозе 10 мг/кг – выраженную гипоплазию лимфоцитов в тимусе. При применении МТХ-В МТХ-Эбеве в суммарной дозе 0,6 мг/кг не отмечено четких изменений во внутренних органах крыс как на 3-е, так и на 30-е сутки опыта. К 30-м суткам после окончания применения МТХ-В и МТХ-Эбеве в суммарной дозе 1,0 мг/кг отмеченные на 3-е сутки морфологические изменения были полностью обратимы в костном мозге и тонком кишечнике крыс. В семенниках отдельных крыс имели место морфологические признаки торможения сперматогенеза.

Выводы. МТХ-В и МТХ-Эбеве при 3-кратном внутривенном ежедневном введении крысам вызывают сходные дозозависимые морфологические изменения в тонком кишечнике, костном мозге, тимусе и семенниках и проявляют одинаковый характер обратимости этих изменений.

А.В. Мешечкин, Л.И. Корытова, Н.Д. Олтаржевская., М.А. Коровина, О.В. Корыто, В.Г. Красникова
РЕЗУЛЬТАТЫ РАДИОМОДИФИКАЦИИ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ
У БОЛЬНЫХ РАКОМ ПРЯМОЙ КИШКИ

ФГБУ Российский научный центр радиологии и хирургических технологий, Санкт-Петербург
ООО «Колетекс», Москва

Цель исследования. Оценить эффективность использования дисков на основе альгината натрия с 5-фторурацилом в ходе лучевой терапии (ЛТ).

Материалы и методы. В исследование включены 39 пациентов с диагнозом рак прямой кишки (РПК). Для радиомодификации использовали «Колегель-5-фтур-диск» интра ректально. В 1 группу были включены 19 пациентов, которым проводилась ЛТ на область малого таза до СОД 50 Гр с радиомодификацией таблетированным 5-фторурацилом. Во 2 группу включили 20 пациентов, которые получали ЛТ и системную химиотерапию.

Результаты. Во 2 группе тошнота 1 ст была отмечена у 3 пациентов, лучевой ректит 2 ст – у 12, лучевой эпителиит 2 ст – у 7. В 1 группе тошнота 1 ст наблюдалась у 4 пациентов, лучевой ректит 1–2 ст – у 13, лучевой эпителиит 2 ст – у 7. В результате лечения во 2 группе полный регресс (ПР) был достигнут у 1 пациента, частичный регресс (ЧР) – у 15, стабилизация – у 3, прогрессирование – у 1, т.е. клинический эффект – у 19 из 20 пациентов. В 1 группе ПР диагностирован у 3 пациентов, ЧР – у 16, т.е., у всех больных был получен клинический эффект.

Выводы. Применение материала гидрогелевого «Колегель-5-фтур-диск» в процессе ЛТ не увеличивает частоту лучевых реакций слизистой прямой кишки. Все пациенты получили запланированный курс ЛТ без перерыва. Отмечено повышение непосредственной эффективности ЛТ рака прямой кишки.

О.В. Минаева, О.А. Куликов, Р.М. Евсеев, С.А. Фирстов, Н.А. Пятаев, А.В. Кокорев, А.В. Заборовский

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА БИОСОВМЕСТИМОСТИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА

ФГБОУ ВПО «МГУ. Н.П. Огарева», Саранск

Цели исследования. Модифицировать поверхность наночастиц оксида железа биосовместимым стабилизатором и полимерами. Оценить *in vitro* гемосовместимость и цитотоксичность модифицированных наночастиц.

Материалы и методы. Были синтезированы наночастицы оксида железа (НЧЖ) стабилизированные олеиновой кислотой (ОК) и лимонной кислотой (ЛК). Получены полимерные капсулы (ПК) из полиэлектролитов полистирилсульфоната (PSS) и полиаллиламина гидрохлорида (РАН), в состав которых были включены НЧЖ, стабилизированные ЛК. Цитотоксичность оценивалась по данным МТТ-теста на культуре клеток BL-102. Гемосовместимость оценивалась микроскопически после инкубации с цельной кровью человека *in vitro*. Анализировались жизнеспособность и фагоцитарная активность лейкоцитов.

Результаты и выводы. Данные МТТ теста оказались неинформативными: оптическая плотность образцов с НЧЖ была в 2-3 раза выше, чем в контрольных лунках. Возможная причина – нестабильность МТТ в среде, содержащей НЧЖ, и его спонтанное окисление до формазана. Для уточнения применимости МТТ-теста необходимы дополнительные эксперименты по коинкубированию МТТ с НЧЖ и исследование прооксидантной активности всех типов синтезированных НЧЖ.

Характер взаимодействия НЧЖ с клетками крови зависел от типа применяемого стабилизатора. НЧЖ, стабилизированные олеиновой кислотой, уменьшали количество жизнеспособных лейкоцитов на 10 % ($p=0,04$). При микроскопии мазков НЧЖ, стабилизированных ОК, были видны их скопления, располагавшиеся внеклеточно. НЧЖ, стабилизированные ЛК, и полимерные капсулы на их основе не влияли на жизнеспособность лейкоцитов крови. При микроскопии данные частицы визуализировались как внеклеточно, так и в цитоплазме нейтрофилов, что позволило сделать вывод о фагоцитозе НЧЖ, стабилизированных ЛК, и полимерных капсул на их основе. Активность фагоцитоза НЧЖ составила $37\pm 7,1\%$, капсул – $44,7\pm 5,4\%$ соответственно, что достоверно ниже контрольных величин, полученных для дрожжей ($93\pm 8,5\%$, $p=0,002$).

Работа выполнена в рамках Госзадания ФГБОУ ВПО "МГУ им. Н.П.Огарева". Код проекта 2952.

А.Ф. Миронов, М.А. Грин

АНТИМИКРОБНАЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КАТИОННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ЦИКЛОИМИДОВ ХЛОРОФИЛЛА *a* И БАКТЕРИОХЛОРОФИЛЛА *a*

МИТХТ имени М.В. Ломоносова, Москва

В настоящее время активно развивается метод фотодинамической антимикробной терапии, основанный на инактивации вирусов, бактерий, дрожжевых грибов и простейших активными формами кислорода, которые генерируются фотосенсибилизаторами в возбужденном состоянии. По отношению к антимикробной фотодинамической терапии (ФДТ) у патогенов не развивается устойчивости, бактерицидный эффект носит локальный характер и не имеет системного действия на нормальную флору организма. Это происходит потому, что ни фотосенсибилизатор, ни световое облучение в отдельности не обладают бактерицидным действием или другими повреждающими эффектами. Наиболее актуально использование антимикробной ФДТ для разрушения бактериальных биопленок, которые представляют собой организованные сообщества бактерий, интегрированные в экзополимерный матрикс.

В настоящей работе получены новые катионные циклические имиды в ряду хлорофилла *a* (Хл *a*) и бактериохлорофилла *a* (Бхл *a*) и изучена их антибактериальная активность. В качестве исходных соединений в синтезе целевых пигментов были использованы *N*-аминоциклоимиды, в экзоциклические аминогруппы которых были введены остатки никотиновой и изоникотиновой кислот с последующей кватернизацией атомов азота пиридиновых колец.

Проведенные исследования показали, что предлагаемые катионные фотосенсибилизаторы обладают высокой антибактериальной эффективностью против грамположительных *Staphylococcus aureus* и грамотрицательных *Pseudomonas aeruginosa* бактерий в виде планктонных клеток и в составе биопленок. Впервые показана полная фотодинамическая инактивация особо устойчивых бактериальных биопленок *Pseudomonas aeruginosa* при использовании в качестве фотосенсибилизатора 1 мМ водно-кремоформной мицеллярной дисперсии метилового эфира 13³-*N*-(*N*-метилникотинил)пурпуринамида, времени инкубации 1 час и дозе облучения 105 Дж/см². Исследования, проводимые при помощи микроскопии с использованием маркера «Live/Dead Biofilm Viability Kit», показали, что фотосенсибилизатор взаимодействуя с биопленкой, вызывает полную инактивацию бактерий.

Дополнительным преимуществом предлагаемых катионных фотосенсибилизаторов является то, что максимум их поглощения находится в области 706 нм для пурпуринамида и 830 нм для бактериопурпуринамида, где собственное поглощение биологических тканей невелико. Это позволит эффективно лечить очаги инфекции с глубокой инфильтрацией в ткани.

В.А. Мисюрин¹, А.В. Мисюрин^{1,3}, А.Е. Мисюрина², Л.А. Кесаева¹, Ю.П. Финашутина¹,
В.В. Тихонова¹, А.А. Сальник¹, Е.Н. Мисюрина³, И.Н. Солдатова³, А.А. Крутов³, А.Ю. Барышников¹

**ТРАНСКРИПТ ГЕНА PRAME – НАДЕЖНЫЙ ИНДИКАТОР РИСКА
РАЗВИТИЯ РАННЕГО РЕЦИДИВА У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ПРИМИЕЛОЦИТАРНЫМ ЛЕЙКОЗОМ**

¹ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

²ФГБУ ГНЦ МЗ РФ, Москва

³КДЦ «ГеноТехнология», Москва

Актуальность. Ранее в нашей лаборатории было установлено ценное прогностическое значение уровня экспрессии раково-тестикулярного гена *PRAME* в костном мозге первичных больных острым промиелоцитарным лейкозом (ОПЛ). В клинической практике для выявления группы риска у больных ОПЛ определяют мутации в гене *FLT3*. Точечные мутации в положении *ASP853* с высокой вероятностью указывают на развитие раннего рецидива. По современным данным, эти мутации распространены приблизительно у 15 % первичных больных ОПЛ, однако ранние рецидивы развиваются приблизительно у половины представителей данной группы.

Цель исследования. Сравнить прогностическое значение ранее разработанной нами модели по определению уровня экспрессии гена *PRAME* с моделью оценки риска развития раннего рецидива по наличию мутаций в положении *ASP853* гена *FLT3*.

Материалы и методы. Методом RQ-PCR в клетках костного мозга первичных больных ОПЛ был определён уровень экспрессии гена *PRAME*, а также изоформ *bcr1* и *bcr3* химерного гена *PML/RARα* относительно гена *ABL*, и наличие точечных мутаций в положении *ASP853* гена *FLT3*. В исследованную группу было включено 92 больных, получивших лечение согласно протоколу AIDA. Медиана срока наблюдения динамики развития ранних рецидивов с момента начала терапии составила 23 мес. Для статистической обработки результатов были использованы критерии Манна-Уитни и χ^2 .

Результаты. Тип транскрипта *bcr1* гена *PML/RARα* был выявлен у 52 % (48/92) больных, тип *bcr3* – у 48 % (44/92). У 100 % больных (92/92) экспрессировался ген *PRAME*. Замены в положении были обнаружены у 14 % (13/92) больных. Все больных достигли полной ремиссии. За время наблюдения у 19 % (18/92) из них развился ранний рецидив. Мутации гена *FLT3* обнаружены у 39 % (7/18) первичных больных, имевших в последующем ранний рецидив ($p=0,067$). У 100 % больных с ранним рецидивом при постановке диагноза наблюдался низкий уровень экспрессии гена *PRAME* по отношению к *PML/RARα* ($p=0,008$), что согласуется с нашими предшествующими данными.

Выводы. Низкий уровень экспрессии гена *PRAME* относительно изоформ *bcr1* и *bcr3* химерного гена *PML/RARα* позволяет предсказать ранний рецидив с большей надёжностью, чем наличие мутаций положения *ASP853* гена *FLT3*.

Г.Ф. Михайлова, Т.Г. Шкаврова, Е.В. Голуб, В.В. Цепенко, А.А. Невольских

**ОЦЕНКА ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ ГЕНА ZNF-217 МЕТОДОМ FISH
У БОЛЬНЫХ РЕЗЕКТАБЕЛЬНЫМ РАКОМ ПРЯМОЙ КИШКИ**

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «ФМИЦ им. П.А. Герцена» Минздрава России, Обнинск

Цель исследования. Изучить молекулярно-генетические нарушения локуса 20q13 (ген *ZNF-217*) в группах больных раком прямой кишки с неблагоприятным и промежуточным прогнозом.

Материалы и методы. Исследование выполнено на архивном биопсийном материале 47 больных раком прямой кишки методом интерфазной флуоресцентной *in situ* гибридизации (I-FISH). В работе была использована коммерческая ДНК-проба LSI ZNF217 (Vysis, США).

Результаты. 100 % больных имеют числовые нарушения гена *ZNF-217* в обеих группах; количество опухолевых клеток с нарушением частоты гена *ZNF-217* в группе неблагоприятного прогноза варьировалось в пределах 54 – 100 %, а в группе промежуточного прогноза 47 – 97 %; среднее число копий гена *ZNF-217* на клетку в группе неблагоприятного прогноза колебалось от 1,2 до 6,3, составляя в среднем по группе 4,4; в группе промежуточного прогноза вариабельность данного показателя была 2,3 – 7,3, составляя в среднем по группе 4,5.

Выводы. Таким образом, несмотря на выявленные числовые нарушения гена *ZNF-217* у 100 % больных резектабельным раком прямой кишки отдифференцировать по генетическим нарушениям клинически сформированные группы промежуточного и неблагоприятного прогноза не удалось.

Н.А. Михеева¹, Г.С. Терентюк^{1,2}, Н.Г. Хлебцов³

ПРОНИЦАЕМОСТЬ НЕКОТОРЫХ ГИСТОГЕМАТИЧЕСКИХ БАРЬЕРОВ ДЛЯ ЗОЛОТЫХ НАНОЧАСТИЦ ПРИ ИХ ПАРЕНТЕРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ

¹ФГБОУ ВПО УлГУ, Ульяновск

²ФГБОУ ВПО СГУ им. Н.Г. Чернышевского, Ульяновск

³ФГБУН ИБФРМ РАН, Ульяновск

Актуальность. Гистогематические барьеры (ГГБ) представляют собой структурно-функциональные механизмы, выполняющие регуляторную и защитную функции, что обеспечивает относительное постоянство физико-химических свойств, физиологической активности межклеточной среды органа в зависимости от его функционального состояния, а также защиту органов от поступления чужеродных или токсичных веществ эндо- и экзогенной природы. Наночастицы золота (ЗНЧ) получили широкое применение в фундаментальных и прикладных биомедицинских исследованиях, в диагностике, направленном транспорте лекарств и фототермической терапии опухолей. Однако, несмотря на это, вопрос о возможном проникновении наночастиц через ГГБ остается мало изученным.

Задачи исследования. Изучить проницаемость ГГБ белых крыс при внутривенном введении ЗНЧ.

Материал и методы. Самцам и беременным самкам белых крыс, в хвостовую вводили 0,7 мл суспензии 5-, 10, 30- и 50-нм ПЭГелированных ЗНЧ. Интактной группе животных вводили физиологический раствор. Наличие ЗНЧ в тканях выявляли методом аутометаллографии нитратом серебра, а общее содержание золота в тканях оценивали методом атомной адсорбционной спектроскопии (ААС). Исследовали проницаемость гематоплацентарного (ГПБ), гематоэнцефалического (ГЭБ), гематотестикулярного (ГТБ) и гематоретинального (ГРБ) барьеров.

Результаты. Установлена проницаемость ЗНЧ диаметром 5, 10, 30 и 50 нм через ГПБ хориального типа лабораторных белых крыс *in vivo*. Методом ААС установлено, что общее содержание ЗНЧ указанных диаметров в плодах экспериментальной группы в среднем достоверно превышает таковое плодов контрольной группы примерно в 8 раз (на уровне $p < 0,005$). ЗНЧ присутствуют в печени и селезенке плодов. Применение метода аутометаллографии позволило установить факт проницаемости ЗНЧ диаметром 5 нм для ГЭБ – золото определяется в цитоплазме нейроцитов головного мозга самок крыс. ГТБ и ГРБ оказываются непроницаемыми для ЗНЧ всех указанных диаметров – ни ААС, ни применение метода аутометаллографии не позволило определить ЗНЧ в тканях органов.

Выводы. Продемонстрирована размерная зависимость проницаемости ГГБ для ЗНЧ при парентеральном введении.

Д.В. Мищенко¹, М.Е. Неганова², Е.Н. Климанова¹, Т.Н. Сашенкова¹, У.Ю. Аллаярова¹, Е.Ф. Шевцова², Н.П. Конавалова¹, И.В. Висторон¹

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ IN VIVO В РЯДУ 1-ГИДРОКСИ-1,4,8-ТРИАЗАСПИРО[4.5]ДЕКАНОНОВ

¹ИПХФ РАН, Черноголовка

²ИФАВ РАН, Черноголовка

Актуальность. В современной химиотерапии опухолей развивается направление по созданию таргетных препаратов. В качестве таких соединений могут выступать циклические гидроксамовые кислоты (ЦГК), являющиеся потенциальными ингибиторами фермента гистондеацетилазы, который усиливает пролиферацию опухолевых клеток, ингибирует их апоптоз, содействует процессу метастазирования. Ранее на экспериментальных животных нами показан антилейкемический и антиметастатический эффект новых циклических гидроксамовых кислот (ЦГК).

Цели исследования. Определение противоопухолевой и хемосенсибилизирующей активности полученных рацемических ЦГК в ряду 1-гидрокси-1,4,8-триазаспиро[4.5]деканонов на экспериментальных лекарственно-чувствительных моделях, а также провести анализ взаимозависимости структура–противоопухолевая активность.

Результаты и выводы. Найдено, что ЦГК на основе DL-валина и DL-фенилаланина обеспечивают заметный уровень выживаемости (25 – 63 %) и увеличения средней продолжительности жизни (в 1,4 – 2 раза) экспериментальных животных при терапии лейкемии Р388 в сочетании с циклофосфаном и цисплатином. Установлено, что увеличение конформационной энергии алкильного заместителя ($\text{CHMe}_2 > \text{CH}_2\text{Ph} > \text{CH}_2\text{CHMe}_2 > \text{Me}$) имидазolidинового цикла соединений ряда 1-гидрокси-1,4,8-триазаспиро[4.5]декан-2-она способствует значительному повышению их адьювантной способности (усилению противоопухолевого действия цитостатиков) при терапии лейкемией Р388. Исследовано влияние ЦГК на митохондриальные характеристики (mitochondrial permeability transition (MPT). Установлено, что ЦГК, усиливающие Ca^{2+} -индуцируемое набухание митохондрий, способны потенцировать МРТ, это может свидетельствовать о возможности про-апоптотического эффекта данных соединений.

При поддержке РФФИ (13-03-01142).

Д.В. Мищенко¹, М.Е. Неганова², Е.Н. Климанова¹, Т.Н. Сашенкова¹, У.Ю. Аллаяров¹, Е.Ф. Шевцова², М.В. Макаров³

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 3,5-БИС(АРИЛИДЕН)-4-ПИПЕРИДИНОВ

¹ИПХФ РАН, Черноголовка

²ИФВ РАН, Черноголовка

³ИНЭОС РАН, Москва

Актуальность. На сегодняшний день в клинической практике применяется ряд фосфорсодержащих лекарственных средств, в частности, противоопухолевые препараты циклофосфамид и фосфэстрол.

Цели исследования. Определение противоопухолевой и хемосенсибилизирующей активностей новых соединений из класса 3,5-бис(арилиден)-4-пиперидинов с моно- (МАК-168) и бисфосфонатными (МАК-166) группировками.

Материалы и методы. Противоопухолевую активность определяли *in vivo* на моделях лейкоза Р388 и меланомы В16. Острую токсичность определяли *in vivo* при однократном введении водных растворов исследуемых соединений. Токсичность *in vitro* выявляли на культуре клеток нейронов коры головного мозга крыс методом МТТ.

Результаты и выводы. В экспериментах *in vivo* показано, что введение бисфосфонатного фрагмента в структуру 3,5-бис(арилиден)-4-пиперидинов приводит к возрастанию токсичности соединений. Методом МТТ показано, что после 24ч инкубации культуры нейронов коры головного мозга крыс с концентрациями вещества МАК-166 выше 0,1 мкМ, наблюдалось значительное снижение выживаемости клеток, а при концентрации 0,01 мкМ выживаемость клеток оставалась на уровне контроля. Экспериментальные данные на моделях лейкоза Р388, а также меланомы В16 свидетельствуют об активности 3,5-бис(арилиден)-4-пиперидинов в качестве хемосенсибилизаторов цисплатина и циклофосфана. При комбинации исследуемых соединений с противоопухолевыми цитостатиками, терапевтические дозы последних могут быть значительно уменьшены.

Работа поддержана РФФИ (14-03-00687 А).

Д.В. Мищенко, Е.Н. Климанова, Т.Н. Сашенкова, У.Ю. Аллаярова, Т.Н. Якущенко,

Н.П. Коновалова, И.К. Якущенко

АНТИЛЕЙКЕМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПРОДИМИНА

ИПХФ РАН, Черноголовка

Актуальность. Продимин – это цитостатический препарат алкилирующего действия, в состав которого входят бромалкиламидные радикалы и обладает выраженной противолейкозной активностью, особенно сильно подавляет миелопролиферативные процессы. Применяют при хроническом миелолейкозе, эритремии, хроническом лимфолейкозе, а также при идиопатическом миелофиброзе и миелопролиферативном синдроме с тромбоцитозом. В ряде случаев эффективен при резистентности к другим противолейкозным препаратам.

Цели исследования. Определить острую токсичность и выявить антилейкемическую активность новых производных (ЯК-116 и ЯК-117) известного цитостатика продимина.

Материалы и методы. Методы определения токсичности и антилейкемической активности аналогично работе [Н.П. Коновалова, И.В. Выстороп и др., 2013]. В работе были использованы экспериментальные опухоли – лейкоз Р388, которую прививали внутрибрюшинно. При оценке антилейкемического эффекта учитывали число излеченных животных (проживших 60 суток) и индекс увеличения средней продолжительности жизни (ILS, %) леченых животных по сравнению с контрольными.

Результаты и выводы. Показано, что включение метильных групп по атомам азота не приводило к уменьшению токсического действия соединения ЯК-116 относительно продимина, а замена заместителя Br на Cl приводило к снижению токсичности вещества ЯК-117 в 1,5 раза.

Исследование противоопухолевой активности соединений ЯК-116 и ЯК-117 проводили на экспериментальной опухоли мышей лимфолейкоза Р388 в сравнении с таким известным противоопухолевым препаратом как продимин. Установлено, что терапия продимином увеличивала среднюю продолжительность жизни мышей на 43%, выживших мышей не было. В группе мышей, которым вводили раствор соединения ЯК-116 по истечении 60 суток наблюдения после трансплантации лимфолейкоза Р388, наблюдалось 33 % выживших животных и индекс увеличения средней продолжительности жизни (ILS, %) павших животных составил 110,6 %. В группе мышей, которым проводили терапию соединением ЯК-117 выживших животных не было, а индекс ILS, % не отличался от контрольной группы. Таким образом, ЯК-166 можно рекомендовать для дальнейших исследований как потенциальный противоопухолевый препарат.

Д.В. Мищенко, Е.Н. Климанова, Т.Н. Сашенкова, У.Ю. Аллаярова, Н.П. Коновалова, И.И. Воронов, П.А. Трошин
**ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОВАЛЕНТНЫХ КОНЬЮГАТОВ
ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНА C60 И РУБОКСИЛА**

ИПХФ РАН, Черноголовка

Актуальность. Использование наночастиц, в том числе фуллеренов, в медицине открывает новые возможности повышения эффективности терапии злокачественных новообразований. После того, как проблема растворимости производных фуллеренов в воде была успешно решена с помощью химической модификации, были синтезированы фуллереновые производные с различными функциональными группами, которые, с одной стороны, придают фуллереновым структурам растворимость, а с другой, позволяют модулировать у них различные виды биологической активности. Водорастворимые производные фуллерена C60 (ВПФ) за счет антиоксидантных свойств способны оказывать защитный эффект на нормальные ткани внутренних органов и могут быть полезны как потенциальные органопротекторы при противоопухолевой терапии.

Цели исследования. Изучение *in vivo* токсичности и противоопухолевой активности нековалентных конъюгатов производных фуллерена и противоопухолевого препарата рубоксила (Rbx).

Материалы и методы. Противоопухолевую активность определяли *in vivo* на моделях лейкоза P388. Лимфолейкоз P388 прививали внутрибрюшинно. При оценке антилейкемического эффекта учитывали число излеченных животных (проживших 60 суток) и индекс увеличения средней продолжительности жизни (ILS, %) леченых животных по сравнению с контрольными.

Результаты и выводы. Были исследованы следующие нековалентные конъюгаты фуллеренов с рубоксилом: VI-20, VI-30, VI-58 и VI-151. Установлено, что изученные ВПФ малотоксичны. Химиотерапия лейкоза мышей P388 нековалентными конъюгатами ВПФ с противоопухолевым препаратом Rbx приводило к увеличению количества выживших животных до 50% на 60 сутки наблюдения в случае введения соединений VI-138 и на 20-30% при лечении с использованием VI-58, VI-151 и VI-30. Также отмечается увеличение средней продолжительности жизни (ILS) экспериментальных животных до 385 % для VI-58 и от 292 до 329 % для соединений VI-58, VI-151 и VI-30.

Г.Е. Морозевич, Н.И. Козлова, А.Е.Берман

ИНТЕГРИНЫ В МЕХАНИЗМЕ АНОИКИСА ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ИБМХ, Москва

Актуальность. Рост и злокачественная прогрессия клеток опухолей во многом зависит от их взаимодействия с внеклеточным матриксом. Ключевыми участниками этого взаимодействия являются интегрины – рецепторы клеточной мембраны. Одним из распространенных и жизненно важным интегрином является коллаген-связывающий рецептор $\alpha 2 \beta 1$.

Цель исследования. Выяснение роли интегрин $\alpha 2 \beta 1$ в приобретении раковыми клетками способности к блокированию субстрат-зависимого апоптоза (аноикиса), к их выживанию в отсутствии связи с матриксом, что создает условия для злокачественной прогрессии – инвазии раковых клеток в окружающие ткани и образованию метастазов.

Материалы и методы. В работе исследовалась линия клеток MCF-7 карциномы молочной железы человека. Методы: трансдукция клеток мшРНК, цитофлуориметрия, электрофорез в ПААГ, иммуноблоттинг. **Результаты.** Блокирование экспрессии интегрин $\alpha 2 \beta 1$ в линии MCF-7 карциномы молочной железы значительно увеличивает чувствительность клеток к субстрат-зависимому апоптозу (аноикису) и резко тормозит их способность к образованию клонов. Торможение экспрессии $\alpha 2 \beta 1$ сопровождается увеличением синтеза белков p53 (промотора апоптоза) и p27 (ингибитора циклин-зависимых протеинкиназ), с одной стороны, и уменьшением продукции антиапоптозного белка Bcl2 и полифункционального белка cMyc, с другой. Снижение в клетках $\alpha 2 \beta 1$ не влияет на активность протеинкиназы Akt, но резко усиливает активность киназы Erk1/2. Торможение последней не влияет на аноикис контрольных клеток, однако снижает до их уровня аноикис клеток с заблокированным $\alpha 2 \beta 1$.

Вывод. Впервые показано, что интегрин $\alpha 2 \beta 1$ участвует в защите клеток карциномы молочной железы через ингибирование сигнальной протеинкиназы Erk.

Н.Б. Морозова¹, Е.А. Плотникова¹, Е.Н. Шевченко², Л.И. Соловьева², Е.А. Лукьянец², Р.И. Якубовская¹

**ПОИСК НОВЫХ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ
ДЛЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ ОПУХОЛЕЙ**

¹ФГБУ «ФМИЦ им. П.А.Герцена» МЗ РФ, Москва

²ФГУП ГНЦ «НИОПИК», Москва

Цель исследования. Поиск новых фотосенсибилизаторов (ФС) фталоцианинового ряда, предназначенных для флуоресцентной диагностики злокачественных новообразований.

Задачи исследования. Оценка флуоресцентной контрастности (ФК) новых производных фталоцианина у мышей – опухоленосителей.

Материалы и методы. Исследовали производные октакарбоксифталоцианина цинка: $\text{ZnPc}(\text{COONa})_8$ (1), $\text{ZnPc}(\text{CON}(\text{CH}_2)_4\text{NCH}_3)_8$ (2), $\text{ZnPc}[\text{CON}(\text{CH}_2)_4\text{N}(\text{CH}_3)_2]^+\text{OSO}_2\text{PyCH}_3^-]_8$ (3) и безметалльный – $\text{H}_2\text{Pc}(\text{COONa})_8$ (4) в дозе 0,5 мг/кг у мышей BDF₁, самок с привитой саркомой S37 подкожно на бедро. ФК между опухолью, лимфоузлами и окружающей тканью оценивали методом локальной флуоресцентной спектроскопии

Результаты. Показано, что наиболее высокая флуоресценция в первичной опухоли и лимфоузлах выявлена для ФС (1) и (2). Для этих же соединений (через 24 часа после внутривенного введения) в опухолевом узле зарегистрирована максимальная ФК, составляющая 3,8 и 4,9 усл.ед. относительно кожи и 3,3 и 3,5 усл.ед. относительно мышц, соответственно. Величина ФК в паховом лимфоузле, пораженном метастазами, также оказалась высокой и составляла 3,8 и 4,5 усл.ед. относительно кожи, 3,3 и 3,5 усл.ед. – относительно мышц.

Выводы. Выявлены перспективные красители ($\text{ZnPc}(\text{COONa})_8$, $\text{ZnPc}(\text{CON}(\text{CH}_2)_4\text{NCH}_3)_8$) для дальнейшего изучения в качестве агентов для ФД первичных и метастатических очагов злокачественных новообразований.

Н.А. Наволокин, Н.В. Полуконова, Д.А. Мудрак, С.А. Тычина, Н.В. Корчаков,
М.О. Воронков, А.Б. Бучарская, Г.Н. Маслякова

**СРАВНЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА АВРАНА
ЛЕКАРСТВЕННОГО И ВХОДЯЩЕГО В ЕГО СОСТАВ КВЕРЦЕТИНА
ПРИ ИНТРОТУМОРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ**

ГБОУ ВПО СГМУ им. В.И. Разумовского, Саратов

Актуальность. Ранее нами было установлено, что в состав экстракта аврана лекарственного, наряду с другими флавоноидами, входит кверцетин.

Цель исследования. Сравнить противоопухолевую активность флавоноидсодержащего отдельно экстракта аврана лекарственного и отдельно кверцетина в эксперименте *in vivo* на белых крысах с перевитым раком РС-1 при интротуморальном введении.

Материалы и методы. Сырье собрано на территории Саратовской обл., экстракт аврана получен авторским способом (Патент РФ №2482863). Дизайн эксперимента: животные с перевитым раком печени РС-1 были разделены на 3 группы. Первая – группа сравнения с опухолью без воздействия. Вторая и третья группы – экспериментальные с многократным интротуморальным введением аврана (доза 37 мг/мл) и кверцетина (доза 0,25 мг/мл с учетом его содержания в авране) в течение 3 недель после достижения опухолями размера 1 см³. Крыс выводили из эксперимента путем декапитации, забирали опухоль гистологического исследования.

Результаты. При введении экстракта аврана отмечали уменьшение размеров опухоли и появление в ней обширных полостей, заполненных жидкостью, при гистологическом исследовании наблюдали некроз опухоли и выраженную соединительно-тканную капсулу вокруг нее. При введении кверцетина не отмечали уменьшения размеров опухоли в отличие от группы сравнения, макроскопически опухоль была также сходна с группой сравнения, не наблюдали морфологических признаков повреждения.

Выводы. Таким образом, выраженный цитотоксический эффект аврана обусловлен не присутствием в его составе кверцетина, так как последний не обладает противоопухолевым эффектом.

Ж.К. Назаркина^{1,3}, М.В. Харьковская¹, Д.В. Антонец², С.И. Бажан²,
Л.И. Карпенко², А.А. Ильичев^{1,2}, П.П. Лактионов^{1,3}

**КОНСТРУИРОВАНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОГЕННОСТИ
КАНДИДАТНОЙ ДНК-ВАКЦИНЫ ПРОТИВ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

¹ИХБФМ СО РАН, Новосибирск

²ГНЦВБ «Вектор», р.п. Кольцово

³НИИПК имени ак. Мешалкина, Новосибирск

Рак молочной железы (РМЖ) занимает первое место среди онкологических заболеваний женщин. Одним из вариантов селективного уничтожения опухолевых клеток, является использование противораковых ДНК-вакцин. С использованием программ TEpredict и PolyCTLDesigner сконструирована полиэпитопная ДНК BC2, содержащая эпитопы белков HER2 и Mammaglobin-1 (Mam) – характерных онкогенов РМЖ. Получены апирированные препараты плазмидных ДНК, кодирующие полиэпитопный антиген и полные копии HER2 и Mam. Зрелые дендритные клетки (ДК) были получены дифференцировкой из моноцитов периферической крови человека. Показано, что полученные ДК обладают морфологическими и фенотипическими признаками зрелых ДК. Стимуляция ДК, трансфицированными плазмидными ДНК, приводит к усилению пролиферации Т-клеток и повышению секреции ИФН-γ Т-клетками. Показано, что полученные ДК стимулируют Th1-поляризацию Т-клеток и индукцию цитотоксического иммунного ответа. Показана антиген-специфическая активация Т-клеток в ответ на стимуляцию ДК, трансфицированными pBC2. Полученные данные свидетельствуют об эффективности полиэпитопной ДНК-вакцины по сравнению с ДНК-вакцинами кодирующими полные копии антигенов

М.Е. Неганова¹, П.А. Тараканов¹, Е.Ф. Шевцова¹, И.В. Выстороп², Д.В. Мищенко²

**ЖЕЛЕЗОХЕЛАТИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ СПИРОЦИКЛИЧЕСКИХ ГИДРОКСАМОВЫХ КИСЛОТ
КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ МЕХАНИЗМ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ДЕЙСТВИЯ**

¹ИФАВ РАН, Черноголовка

²ИПХФ РАН, Черноголовка

Актуальность. Известно, что гистоновые деацетилазы (HDAC) вовлечены в неопластический процесс. HDAC в своей структуре содержит металл Zn²⁺. Однако Stephanie L. Gantt и др. показали, что в качестве металлокофактора для HDAC может выступать Fe²⁺. Следовательно, одним из способов регулирования активности HDAC и, в целом, канцерогенеза может являться изменение концентрации ионов железа и окислительно-восстановительного статуса клетки.

Цель работы. Оценка Fe²⁺-хелатирующей способности спироциклических гидроксамовых кислот.

Результаты. Методом, основанным на конкуренции хелатирования железа между феррозином и исследуемыми соединениями было установлено, что все соединения в рабочей концентрации 10⁻⁴ М проявили Fe²⁺-хелатирующую активность. При этом соединения, содержащие 2,2,6,6-тетраметилпиперидиновый цикл, оказались наиболее активными хелаторами, что подтверждается квантово-химическими расчетами.

Заключение. Таким образом, изученные спироциклические гидроксамовые кислоты могут выступать в качестве основы для создания фармакологических агентов для противоопухолевой терапии с Fe²⁺-хелатирующим механизмом действия.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (13-03-01142).

Л.Л. Николаева¹, А.В. Ланцова¹, Е.В. Санарова¹, А.П. Полозкова¹, О.Л. Орлова¹, Н.А. Оборотова^{1,3}, А.О. Райков¹, М.А. Барышникова¹, В.В. Мусияк², Г.Л. Левит², В.П. Краснов², Н.Д. Бунятян³

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ НОВОГО ПРЕПАРАТА ИЗ КЛАССА АЛКИЛНИТРОЗОМОЧЕВИНЫ

¹ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

²Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, Екатеринбург

³Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва

Актуальность. Производные алкилнитрозомочевина (АНМ) – перспективная группа химических соединений, обладающих алкилирующим и карбамоилирующим действием в отношении опухолевых клеток. В связи с этим является актуальным разработка новых и совершенствование старых противоопухолевых препаратов данного класса. С этой целью в Институте органического синтеза им. И.Я. Постовского синтезировано новое соединение из класса АНМ – ормустин.

Цель исследования. Усовершенствование разработанной липосомальной лекарственной формы ормустина для повышения терапевтического эффекта и эффективности включения действующего вещества.

Материалы и методы. При определении оптимального состава липосомальной формы ормустина в качестве вспомогательных веществ использовали яичный лецитин, холестерин, PEG-2000 DSPE, 0,1% и 1% лимонную и 0,1 М соляную кислоты, цитратный буферный раствор с pH=4 и pH=5. Липосомы получали упариванием хлороформного раствора липидных компонентов до образования полупрозрачной липидной пленки. Пленку гидратировали водным раствором ормустина. Малые однослойные липосомы получали методом экструзии, последовательно пропуская липосомы через мембранные фильтры с уменьшающимся размером пор 0,45 и 0,22 мкм на экструдере LipexTM Thermobarrel Extruder. Эффективность включения определяли пропусканием липосомальной дисперсии через хроматографическую колонку, заполненную сефадексом G-50 с последующим определением содержания ормустина на спектрофотометре Cary 100.

Результаты и выводы. В результате проведенных исследований установили, что использование цитратного буфера позволило получить липосомы с наибольшей эффективностью включения, но из-за нестабильности действующего вещества в данном составе в дальнейших исследованиях цитратный буфер не применялся. Введение соляной кислоты привело к значительному повышению растворимости, но низкое значение pH липосомальной дисперсии вызывало окисление липидов. Использование лимонной кислоты (0,1%) позволило не только повысить растворимость, но и получить стабильную при хранении при температуре +5 °С в течение двух недель лекарственную форму с эффективностью включения 60±5%.

Л.Л. Николаева¹, А.В. Ланцова¹, Е.В. Санарова¹, А.П. Полозкова¹, О.Л. Орлова¹, Н.А. Оборотова^{1,3}, В.В. Мусияк², Г.Л. Левит², В.П. Краснов², Н.Д. Бунятян³

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЕМОВ НА СТАБИЛЬНОСТЬ ОРМУСТИНА В РАСТВОРЕ

¹ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

²Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, Екатеринбург

³Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва

Актуальность. Ормустин – новое соединение из класса алкилнитрозомочевина (АНМ), синтезированное в Институте органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН. Ормустин умеренно растворим в воде, мало растворим в 95% спирте, практически не растворим в органических растворителях. Для повышения растворимости ормустина с целью создания инъекционной лекарственной формы (ЛФ) применяли различные физико-химические методы, а также ряд технологических приемов.

Цель исследования. Изучения влияния различных технологических приемов на стабильность ормустина с целью увеличения скорости растворения и масштабирования процесса производства.

Материалы и методы. Субстанция ормустина и вспомогательные вещества, разрешенные для применения в составе инъекционных ЛФ (Kollidon 17 PF, Kollidon 12 PF, Kollisol PEG-400, маннит, лимонная и 0,1 М хлористоводородные кислоты и др.). Для ускорения процесса растворения применяли ряд технологических приемов: нагревание раствора до 60 °С, использование пропеллерной и магнитной мешалок, применение УЗ, разный порядок введения ингредиентов и др. Контроль за стабильностью ормустина в растворе осуществляли измерением количественного содержания и контролем pH.

Результаты и выводы. При проведении эксперимента стало очевидно, что нагревание в процессе растворения субстанции приводит к разрушению активного вещества (снижение концентрации на 18 – 20 %). Применение магнитной и пропеллерной мешалок практически не влияло на содержание ормустина, но при этом не наблюдалось существенного роста скорости растворения. С другой стороны, применение ультразвука в течение 20 – 30 мин не только повысило растворимость, тем самым существенно сократив время растворения, но и практически не повлияло на содержание ормустина в растворе. На основании всех проведенных исследований можно сделать заключение, что наиболее приемлема для получения раствора ормустина технология УЗ-измельчения, которая и применялась в дальнейших исследованиях.

Работа выполнена в рамках Государственного контракта № 13411.1008799.13.163 «Доклинические исследования противоопухолевого лекарственного средства класса нитрозомочевин».

Л.Л. Николаева¹, А.В. Ланцова¹, Е.В. Санарова¹, А.П. Полозкова¹, О.Л. Орлова¹, Н.А. Оборотова^{1,3}, В.В. Мусияк², Г.Л. Левит², В.П. Краснов², Н.Д. Бунятян³

ПАРЕНТЕРАЛЬНАЯ ЛЕКАРСТВЕННАЯ ФОРМА НОВОГО СОЕДИНЕНИЯ ИЗ КЛАССА АЛКИЛНИТРОЗОМОЧЕВИНЫ

¹ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

²Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, Екатеринбург

³Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва

Актуальность. Основными методами лечения рака до сих пор являются применение хирургических операций и прием противоопухолевых лекарственных препаратов. Поэтому постоянно ведется поиск оригинальных лекарственных средств, который базируется на проведении химических, физических, биологических, фармацевтических и клинических исследований. С этой целью в Институте органического синтеза им. И.Я. Постовского синтезировано новое соединение из класса алкилнитрозомочевины – ормустин.

Задача исследования. Разработка стабильной и эффективной сублимационно высушенной парентеральной лекарственной формы (ЛФ) ормустина.

Материалы и методы. Субстанция ормустина, Kollidon 17 PF, Kollidon 12 PF, Kollisol PEG-400, маннит, соляная и лимонные кислоты и др. вспомогательные вещества (ВВ), разрешенные для применения в составе парентеральных ЛФ. Стабильность разработанной ЛФ определяли исследованием влияния различных ВВ и технологических приемов (нагревание, применение УЗ, перемешивание на магнитной и пропеллерной мешалках, фильтрование и др.) на содержание действующего вещества. Количественное определение проводили на спектрофотометре Cary 100 (Varian, Inc., Австралия) при длине волны 228±2 нм.

Результаты и выводы. В ходе исследования физико-химических свойств субстанции ормустина оказалось, что данное соединение гидролитически неустойчиво, поэтому после изучения ряда способов стабилизации в качестве основных компонентов ЛФ были выбраны раствор 0,1 М хлористоводородной кислоты (в качестве растворителя) и Kollidon 17 PF (в качестве формообразователя для процесса лиофилизации). Полученная таким образом лиофилизированная ЛФ оказалась стабильной при хранении при температуре – 18 °С в течение 6 мес по изученным параметрам (внешний вид, pH, концентрация действующего вещества), срок годности данной ЛФ исследуется.

Работа выполнена в рамках Государственного контракта № 13411.1008799.13.163 «Доклинические исследования противоопухолевого лекарственного средства класса нитрозомочевин».

Л.Н. Николаевич

ТЕСТ-СИСТЕМА НОВОГО УРОВНЯ, ПОЗВОЛЯЮЩАЯ РЕГУЛИРОВАТЬ ПРОЛИФЕРАЦИЮ КЛОНОГЕННЫХ КЛЕТОК ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕРЕЗ МЕХАНИЗМЫ ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГЛУТАМАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Актуальность. Одним из подходов к разработке способов регуляции пролиферации опухолевых клоногенных клеток является изучение механизмов опосредованной передачи сигналов через глутаматергическую систему. Глутаматные рецепторы имеют высокую плотность в опухолях головного мозга, где среди первичных опухолей – 60 % являются злокачественными.

Цель исследования. Разработка тест-системы нового уровня, которая позволит разделить популяцию опухолевых клеток на потомство клоногенных клеток методом клонирования *in vitro* и изучить характер и направленность процессов пролиферации клоногенных клеток с использованием лигандов глутаматных рецепторов.

Материалы и методы. Опыты проведены на экспериментальной модели мультиформной глиобластомы человека (клеточная линия глиомы крысы C6). В качестве агонистов глутаматных рецепторов (ГР) использовали: L-глутаминовую кислоту в дозах 10 мкМ, 100 мкМ, 1000 мкМ, 20 мМ, 200 мМ; NMDA (N-метил-D-аспартат) в дозах 1 мМ, 10 мМ, 100 мМ; AMPA (α-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксанолпропионовую кислоту) – 0,5 мМ, 5 мМ; КА (каиноновую кислоту) – 1 мМ, 10 мМ и ингибитор пролиферации – темозоломид (Темобел, РУП «Белмедпрепараты», РБ) в дозах 0,5 мкг/мл, 5 мкг/мл, 50 мкг/мл, 100 мкг/мл.

Результаты. Впервые установлено, что агонисты ГР являются факторами, изменяющими пролиферацию клоногенных опухолевых клеток, а также оказывают дозозависимое и избирательное действие на эти клетки: L-глутаминовая кислота в дозе 200 мМ, NMDA – 100 мМ и КА – 10 мМ на 50-70% подавляют пролиферацию клоногенных опухолевых клеток в клонах *in vitro*. В условиях сочетанного действия L-глутаминовой кислоты в дозе 10 мкМ и темозоломида в дозе 100 мкг/мл наблюдается достоверное снижение пролиферации клоногенных опухолевых клеток ниже контрольного уровня. Темозоломид в дозах 50 мкг/мл и ниже (дозы 0,5 и 5 мкг/мл) достоверно снижает эффективность клонирования клоногенных клеток в клонах *in vitro* по сравнению с контролем.

Выводы. Таким образом, действие темозоломида на клоногенные опухолевые клетки усиливается после изменения функционального состояния глутаматных рецепторов.

Д.С. Новикова, А.В. Гарабаджиу, В.Г. Трибулович

РАЗРАБОТКА АКТИВАТОРОВ АМФК ДЛЯ ТЕРАПИИ РАКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

СПбГТИ(ТУ), Санкт-Петербург, Россия

Актуальность. Считается, что одной из причин возникновения раковых заболеваний является нарушение энергетического баланса на клеточном уровне. В связи с этим особый интерес представляет воздействие на АМФК (АМФ-активируемую протеин киназу) как на главный энергетический регулятор на клеточном уровне и на уровне организма в целом. Было показано, что использование АМФК в качестве мишени позволяет обеспечить онкосупрессорный эффект как минимум в трех направлениях: остановка клеточного цикла, связанная со стабилизацией p53 и ингибиторов циклин-зависимых киназ p21 и p27; подавление эффекта Варбурга через угнетение HIF-1α; ингибирование mTOR и белкового синтеза. Эффективность активаторов АМФК в борьбе с раковыми заболеваниями была продемонстрирована на таких известных препаратах, как метформин и AICAR, что делает подобные вещества потенциальными лекарственными препаратами. Существующие подходы к активации АМФК включают в себя поиск и создание АМФ-аналогов, к которым относится AICAR, разработку активаторов, действующих по альтернативным аллостерическим сайтам, а также выявление веществ, стимулирующих активирующие АМФК киназы (по данному механизму действует метформин). Однако наиболее перспективным подходом является блокирование действия автоингибиторного домена АМФК, функция которого заключается в связывании киназного домена и инактивации киназного комплекса.

Материалы и методы. С помощью виртуального скрининга диверсифицированной библиотеки химических соединений было идентифицировано соединение-хит, обладающее структурным сходством (коэффициент Танимото 0,85) с наиболее активным из известных на сегодняшний день блокаторов автоингибиторного домена (в литературе обозначается как Compound 24), но существенно отличающееся от последнего по строению. Активность выявленного соединения-хита была подтверждена на клеточной модели активации АМФК. Полученное соединение было положено в основу серии химических соединений, активирующих АМФК.

Результаты и выводы. Разработанная серия химических соединений на основе выявленного соединения-хита была синтезирована и исследована на способность активировать АМФК в клеточных условиях. По данным биологических экспериментов активность полученных соединений в среднем в 2 – 3 раза выше по сравнению с AICAR.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 14-03-31592 мол_а) и Правительства РФ (грант 11.G34.31.0069 от 21.10.2011).

М.В. Оборотова, О.С. Бурова, М.А. Барышников, Т.Н. Заботина, К.А. Барышников, И.Н. Михайлова, Л.Ф. Морозова, Н.М. Сураева, З.Г. Кадагидзе, А.Ю. Барышников

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ АНТИГЕНОВ СТВОЛОВЫХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК НА КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ МЕЛАНОМЫ ЧЕЛОВЕКА

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Задачи исследования. Изучить и охарактеризовать экспрессию антигенов CD133, CD117, CD34, CD90, CD44, CD24, ассоциированных со стволовыми опухолевыми клетками (СОК), на клеточных линиях меланомы человека.

Материалы и методы. Клеточные линии меланомы человека mel Mtp, mel MtpX, mel Z, mel Kor, Malme-M3, mel Ibr, mel P, mel Cher, mel Is, mel Me, mel H, mel Hn, mel BGF, mel Si, mel Rac, mel Gus, mel Gi, mel Ksen, mel Ch, mel П, mel R из коллекции лаборатории экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей НИИ ЭДИТО ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина». Реакция иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител к антигенам CD133/2, CD117, CD34, CD90, CD24, CD44. Экспрессию антигенов оценивали на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto II.

Результаты. Линии клеток различались по экспрессии антигенов, ассоциированных с СОК. Экспрессия исследуемых антигенов была гетерогенна. Экспрессия CD133 и CD117 наблюдалась на 6 (28,5 %) из 21 линии, CD90 – на 12 (57 %), CD 34 – на 4 (19 %), CD44 – на 17 (81 %) и CD 24 – на 5 (23,8 %) из 21 линии. На других линиях клеток экспрессия этих антигенов была менее 10 % (от 1 до 8,5 %). Клетки линии mel Ibr с уровнем экспрессии антигена CD133 8,5 % клонировали в полужидком агаре для выделения популяции, экспрессирующей CD133. Полученный клон, названный mel Ibr RMCR, имел 100 % CD133-положительных клеток. Таким образом, опухолевые клетки, экспрессирующие небольшой процент СОК-ассоциированных антигенов, являются СОК, а остальные клетки – их потомками. Наиболее часто на клеточных линиях встречался антиген CD44 – на 18 (85,7 %) из 21 клеточной линии.

Заключение. Клеточные линии, полученные из метастатической меланомы кожи человека, экспрессируют маркеры стволовых опухолевых клеток, экспрессия гетерогенна и колеблется от 1 % до 100 %. Из клеточной линии, представленной низким процентом антиген-позитивных клеток, можно выделить клон со 100 % экспрессией антигена СОК.

М.С. Ольшанский, А.Н. Редькин, Н.А. Знаткова, С.А. Стикина, О.Л. Тищенко, Е.Д. Панов

ВНУТРИАРТЕРИАЛЬНЫЕ ВМЕШАТЕЛЬСТВА В ХИМИОЛУЧЕВОМ ЛЕЧЕНИИ РАКА РОТОГЛОТКИ

БУЗ ВО ВОКОД, Воронеж

Цель исследования. Анализ одногодичных результатов применения внутриаартериальной химиотерапии (ВАХТ) и химиоэмболизации (ХЭ) опухолевых сосудов в химиолучевой терапии (ХЛТ) рака ротоглотки.

Материалы и методы. С 2013 по 2014гг. ВАХТ с лучевой терапией (ЛТ) получили 24 пациента III и IV стадиями $T_{2-4}N_{0-2}M_0$ рака ротоглотки. Плоскоклеточный рак верифицирован в 100 % случаев. ВАХТ проводили цисплатином (75 мг/м^2) и 5-фторурацилом (750 мг/м^2) в течение 45 минут в ветви обеих наружных сонных артерий. У 17 больных также выполнялась ХЭ. Через 24 часа после ВАХТ начинали ЛТ (2 Гр \times 5 дней в неделю до СОД70Гр). Кратность курсов ВАХТ составляла 21 день.

Результаты. Один курс ВАХТ получили 4 пациента (1 ХЭ) – 100% положительная динамика. Два курса ВАХТ 8 пациентов (7 ХЭ) – 100% положительная динамика, из них у 5 регресс опухоли более 60 %. Три курса ВАХТ у 8 пациентов, из которых: 2 больных ($T_4N_2M_0$) умерли через 1 год, а у 6 (4 ХЭ) отмечен регресс опухоли более 60 %. Четыре курса ВАХТ и ХЭ получили 3 пациента – 100% положительная динамика. Двух больных прооперировали. Перед операцией выполнена ХЭ. У 7 больных ВАХТ проведена в связи с продолженным ростом опухоли после уже завершённой ХЛТ. Из них 1 пациенту проведено 7 курсов – прожил 18 месяцев, у 6 больных после стабилизации начата повторная ЛТ (все живы). Токсических реакций 3 – 4 степени не наблюдалось.

Выводы. Предоперационные ВАХТ и ХЭ создают благоприятные условия для последующего хирургического лечения. ВАХТ может рассматриваться, как метод выбора в случае продолженного роста опухоли после завершения ХЛТ.

И.М. Омарова, В.Б. Сирота, Н.А. Кабилдина, Л.Е. Муравлева, О.А. Пономарева

ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ХИМИОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

КГМУ, Караганда, Казахстан

Цель исследования. Изучение степени токсичности неoadъювантной химиотерапии (ХТ) у больных раком молочной железы.

Материалы и методы. В исследование включены 76 больных раком молочной железы ($T_2N_{1-2}M_0$, $T_3N_{0-2}M_0$) в возрасте от 28 до 75 лет. В контрольной группе 30 больным проводили 4 курса неoadъювантной ХТ по схеме АС (доксорубин 50 мг/м^2 , циклофосфан 500 мг/м^2), исследуемая группа 1 (26 человек) получала режим ХТ АС в сочетании с арглабином (арглабин 370 мг/м^2 № 7 дней), исследуемая группа 2 (20 больных) – монотерапию арглабином. Оценка гематологической токсичности проводилась согласно рекомендациям ВОЗ (Geneva, 1979, 1985).

Результаты. В контрольной группе нейтропения у $23,2 \pm 4,2$ %, в исследуемой группе 1 – у $10,6 \pm 2,9$ %, в исследуемой группы 2 – у $1,9 \pm 1,6$ %. Наиболее выраженная анемия выявлена в контрольной группе $37,4 \pm 4,7$ %, тромбоцитопения – в исследуемой группе 2 $16,4 \pm 4,7$ %. Тошнота и рвота одинаково часто в контрольной группе и исследуемой группы 1 $19,8 \pm 3,9$ %. Гепатотоксичность в контрольной группе в $11,1 \pm 3,2$ %.

Выводы. Наиболее выраженная гематологическая и негематологическая токсичностью при проведении стандартной химиотерапии. Арглабин нивелирует токсическое действие стандартной полихимиотерапии.

Д.Д. Орлова, А.В. Гарабаджису, В.Г. Трибулович

ОПТИМИЗАЦИЯ ВНОВЬ СОЗДАНЫХ ТАРГЕТНЫХ ПРОТИВОРАКОВЫХ ПРЕПАРАТОВ

СПбГТИ(ТУ), Санкт-Петербург

Актуальность. Подавление функции Е3-лигазы Mdm2 и предотвращение протеолиза p53, приводящего к селективному апоптозу раковых клеток, является перспективной стратегией разработки противораковых лекарств – ингибиторов взаимодействия Mdm2-p53. На настоящий момент на первой фазе клинических испытаний находится несколько препаратов: RO5045337, RO5503781, MK-8242 (SCH 900242) и несколько других соединений. В их основе лежит имидазольный скаффолд с хлорзамещенными функциональными группами.

Цель и задачи исследования. На основе выявленного первичного круга ингибиторов, оптимизированного и испытанного in vivo, провести модификацию соединений в рамках решения таких задач, как повышение биодоступности, увеличение стабильности и активности. Выявить дополнительную мишень или определить побочное действие ингибиторов исследуемого класса.

Материалы и методы. На основании отобранных молекулярным докингом соединений с оксиндольным скаффолдом, обладающих заявленной активностью, синтезированных и проверенных на биологической модели (клеточная линия U2OSplv1, направленная на p53-опосредованный апоптоз), разработана схема их модификации, отвечающая задачам исследования. Выбрано направление модификации, позволяющее не только улучшить характеристики соединений, но и провести работу по определению побочного действия / дополнительной мишени ингибиторов.

Результаты и выводы. Произведена модификация ряда активных соединений, повышена их устойчивость к расщеплению, введены гидрофильные функциональные группы, позволяющие повысить водорастворимость, вместе с этим повышена расчетная активность ингибиторов. Подобран метод, позволяющий выявить дополнительные мишени или побочные эффекты. Метод основан на аффинной хроматографии и позволяет выявить дополнительные белки-мишени, связывающиеся с соединениями исследуемого ряда.

А.А. Осипова, А.А. Борунова, Т.Н. Заботина, З.С. Смирнова, Н.М. Перетолчина,
М.А. Барышников, А.Ю. Барышников

ЭКСПРЕССИЯ Р-ГЛИКОПРОТЕИНА В КЛЕТКАХ МЫШИНОГО ЛЕЙКОЗА L1210

ФГБНУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина», Москва

Задачи исследования. Определить статус гена *MDR-1* в трех штаммах мышиного лейкоза L1210: дикий штамм, устойчивый к лизомустину и устойчивый к аранозе.

Материалы и методы. Исследования проводили на 3 штаммах мышиного лейкоза L1210: дикий штамм (чувствительный препаратам нитрозомочевины), устойчивый к лизомустину, устойчивый к аранозе. Клеточные линии получили из асцитных форм L1210 и культивировали в среде RPMI-1640, содержащей 10 % ТЭС. В качестве контроля использовали клеточную линию диссеминированной меланомы человека mel Kog. Наличие Р-гликопротеина, кодируемого геном *MDR1*, определяли по выбросу родамина 123 из клеток. К 5×10^5 клеток в объеме 50 мкл добавляли по 1 мл безсывороточной среды RPMI-1640 и по 3 мкл родамина 123. Клетки инкубировали в течение 15 мин при комнатной температуре. Затем клетки центрифугировали в тех же условиях и двукратно отмывали раствором PBS. Клетки делили на две части и помещали в новые пробирки по 50 мкл в растворе PBS. В первую пробирку добавляли 1 мл полной среды роста, а во вторую – 2 мкл раствора винкристина и 1 мл полной среды роста и инкубировали их в течение 30 мин при 37 °С. После двукратной отмывки PBS клетки ресуспендировали в 300 мкл PBS и анализировали на проточном цитофлуориметре FACSCantoII (Becton Dickinson, США) при длине волны 488 нм.

Результаты. Ранее в опытах *in vivo* было показано, что дикий штамм L1210 был чувствителен к цитотоксическому действию лизмустина и аранозы, устойчивый к аранозе был устойчив к аранозе, а устойчивый к лизомустину – к лизомустину. Исследование выброса родамина из клеток показало, что все три штамма линии L1210 накапливали Rh123 и выбрасывали его. Средние каналы флуоресценции (Mean) с блокаторм Р-гликопротеина винкристином и без него равны соответственно 355,15 и 13,3 (дикий штамм), 246,3 и 47,8 (устойчивый к лизомустину), 187,4 и 13,3 (устойчивый к аранозе). Клеточная линия mel Kog (контроль) накапливала родамин 123, но не выбрасывала его. Средние каналы флуоресценции (Mean) с винкристином и без него равны соответственно 245 и 234.

Заключение. В результате проделанной работы можно сделать вывод о том, что все три исследованных штамма L1210 имеют гиперэкспрессию гена множественной лекарственной устойчивости, проявляющуюся в накоплении и выбросе родамина 123. Устойчивость к аранозе и лизомустину не связана с гиперэкспрессией *MDR1* гена.

Л.А. Островская¹, А.Ф. Ванин², Д.Б. Корман¹, В.Д. Микоян², Л.Н. Кубрина², Р.Р. Бородулин², М.М. Фомина¹,
Н.В. Блюхтерова¹, В.А. Рыкова¹

ДИНИТРОЗИЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ЖЕЛЕЗА –

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

¹ФГУП Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва

²ФГУП Институт химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН, Москва

Актуальность. Известно, что динитрозильные комплексы железа с тиолсодержащими лигандами (глутатионом или цистеином) способны оказывать в физиологических условиях как позитивное, регуляторное, так и негативное влияние на различные системы организма. Ранее была установлена высокая терапевтическая эффективность биядерного динитрозильного комплекса железа с глутатионом (Б-ДНКЖ-Г) в отношении эндометриоза у крыс.

Цель работы. Экспериментальная оценка противоопухолевого эффекта Б-ДНКЖ-Г и в ЭПР исследовании тканей опухоли и органов (печень, лёгкие, селезёнка, мозг, кровь) мышей.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на 80 самках мышей BDF₁, с массой тела 18 – 20 г (питомник РАМН «Столбовая»). Опухолевой тест-системой служила карцинома лёгких Льюис, перевиваемая подкожно в соответствии со стандартной методикой. Измерения спектров ЭПР проводили на модифицированном радиоспектрометре «Радиопан» (Польша) при температуре жидкого азота (77К). Водный раствор Б-ДНКЖ-Г вводился мышам в/б десятикратно, начиная с следующих суток после перевивки опухоли, в диапазоне разовых доз от 20 до 170 мг/кг. Противоопухолевый эффект терапии, оцениваемый при сопоставлении кинетики развития опухолей в группах леченных и контрольных животных, характеризовался с помощью коэффициента торможения роста опухоли (ТРО, %).

Результаты и выводы. Установлена противоопухолевая активность Б-ДНКЖ-Г, которая проявлялась в торможении роста карциномы Льюис на 60 – 80 % по сравнению с контролем, изменяясь в зависимости от дозы препарата и сроков оценки эффекта. Методом ЭПР обнаружено избирательное накопление Б-ДНКЖ-Г в опухоли у леченых животных. Наряду с этим зарегистрировано накопление нитрозильных комплексов гемопротеинов в опухолях у леченых и контрольных животных. Предполагается, что противоопухолевый эффект динитрозильных комплексов железа обусловлен инактивацией гем-содержащих белков, обеспечивающих антинитрозативную защиту в опухолях, под влиянием NO, высвобождающегося из Б-ДНКЖ-Г.

И.Н. Павлова¹, О.М. Конопацкова², Ю.П. Дугин¹

ИММУНОМОНИТОРИНГ И КОРРЕКЦИЯ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

¹НУЗ Дорожная клиническая больница на станции Саратов II ОАО РЖД, Саратов

²ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И.Разумовского МЗ России, Саратов

Цель исследования. Оценить эффективность иммунотерапии нуклеиновыми препаратами у больных раком мочевого пузыря.

Материалы и методы. Оценка иммунологического статуса и эффективность коррекции нуклеиновыми препаратами проведена у 80 больных раком мочевого пузыря. Преобладали мужчины – 72,6 %, возраст пациентов – чаще – 60 – 65 лет – 53,7 %. Окончательно стадия заболевания была следующей: pT2aN0M0 – у 41,4 %, pT2bN0M0 – у 34,5 %, pT3aN1M0 – у 13,8 %, pT3bN1M0 – у 10,3 %. Иммунотерапия проводилась нуклеином натрия (0,5*3 раза в день, 10 дней), ферровиром (5мл, в/м, 10 дней) и неовиром (12,5 % – 2,0, в/м, через 48 часов, 10 введений).

Результаты. При исходном исследовании иммунологического статуса у 72,4 % больных констатировано увеличение количества лейкоцитов в 1,2 раза, тенденция к снижению абсолютного и относительного содержания CD3⁺-лимфоцитов, а также снижение процентного содержания CD4⁺-лимфоцитов. Улучшение показателей иммунитета при коррекции указанными препаратами отмечено через три месяца. Констатировано увеличение количества Т-лимфоцитов и снижение супрессорной активности клеток к концу первого года лечения, по сравнению с исходными данными, что является благоприятным прогностическим признаком. К концу первого года коррекции у больных группы, в которой не было проявлений прогрессирования, констатирована тенденция к нормализации показателей. Среди пациентов с появившимися рецидивами в течение года после окончания лечения, отмечено, что исходные показатели иммунитета были значительно снижены, улучшение происходило на фоне иммуномодуляции, однако ответ был менее выражен. В группе с прогрессированием наблюдались нестабильные, разнонаправленные показатели. В первый год умерло 2 человека.

Вывод. Выраженный иммуномодулирующий эффект применения нуклеиновых препаратов в сочетании с индукторами интерферона способствует длительному безрецидивному течению заболевания.

И.В. Паниченко, В.Н. Богатырёв, В.В. Кузнецов, М.И. Нечушкин, Е.С. Макаров

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КЛЕТОК ОПУХОЛИ

У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ (РЯ)

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Материалы и методы. В исследование включены 309 больных РЯ I – IV стадий. Исследования ДНК в клеточной популяции проводили на лазерном проточном цитометре «EPICS-XL» («Coulter», США).

Результаты. Диплоидный тип опухоли выявлен у 77 (24,9 %) больных, у 232 (75,1 %) – анеуплоидный. Анеуплоидные опухоли достоверно чаще определялись у пациентов с III-IV стадиями заболевания, в серозных или светлоклеточных аденокарциномах, а также в опухолях с низкой степенью дифференцировки. Среди больных с анеуплоидным типом опухоли полный эффект от проводимой химиотерапии достигнут в 97 (57,0 %) наблюдениях, в то время как среди больных с диплоидными опухолями – у 46 (83,6 %) пациенток, ($p < 0,05$). Вместе с тем прогрессирование основного заболевания отмечено только у 4 (7,3 %) больных с диплоидными опухолями, в то время как у каждой четвёртой пациентки с анеуплоидными опухолями отмечено прогрессирование основного заболевания на фоне проводимого лечения – 44 (25,9 %). При сопоставлении отдалённых результатов лечения больных РЯ с количественными параметрами клеток опухолей оказалось, что среди 77 больных РЯ с диплоидными опухолями в течение 5 лет наблюдения были живы $66,8 \pm 6,6$ % женщин, в то время как среди 232 пациенток с анеуплоидными опухолями – всего лишь $24,4 \pm 3,3$ % больных, ($p < 0,05$). Исследование уровня делеций в хромосомных локусах с использованием микросателлитных маркёров показало, что в локусах 11p15, 17q12-21 локализованы гены-супрессоры, участвующие в процессе канцерогенеза и прогрессии опухолей у больных серозным и муцинозным раком яичников. Уровень экспрессии p53-mut в опухолевых клетках коррелирует со стадией заболевания, индексом ДНК и степенью дифференцировки опухолей у больных РЯ.

Заключение. Определение перечисленных выше молекулярно-биологических маркёров показало, что злокачественные эпителиальные новообразования яичников различны по своему клиническому течению, что имеет большое значение для прогнозирования течения заболевания и выработки индивидуальной лечебной тактики.

И.В. Паниченко, И.Б. Зборовская, В.Н. Богатырёв, М.И. Нечушкин, Е.С. Макаров

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДЕЛЕЦИЙ В ХРОМОСОМНЫХ ЛОКУСАХ ОПУХОЛЕЙ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина», Москва.

Цель исследования. Определить потерю гетерозиготности и микросателлитную нестабильность в зонах локализации генов-супрессоров, ассоциированных с развитием и прогрессией рака яичников (РЯ).

Материалы и методы. В опухолях 80 больных оценивали генетическую нестабильность (потерю гетерозиготности) в пяти хромосомных локусах (1p32-36, 7q31.1-3, 11p15, 17q12-21, 18q21-23) с использованием 19 микросателлитных маркёров при помощи полимеразной цепной реакции.

Результаты: делеции в локусе 7q31-53, 11p15, 17q12-21 возникают чаще в злокачественных опухолях по сравнению с пограничными и доброкачественными новообразованиями, что, по нашему мнению, указывает на наличие в этих областях генов-супрессоров, являющихся одним из звеньев канцерогенеза. Чаще всего частота потери гетерозиготности обнаружена в локусе 17q12-21 – 77,8 %, а реже всего (20,4 %) – в 1p32-36. Высокая частота делеций в локусе 17q12-21 может свидетельствовать о том, что ген *BRS1* вовлечён в канцерогенез не только наследственных, но и спорадических форм РЯ. Невысокая, близкая к фоновой, потеря гетерозиготности в локусах 1p32-36, 18q21-23 практически исключает наличие в этих областях генов, участвующих в канцерогенезе при РЯ. При анализе зависимости количества делеций с учётом стадии заболевания, выявлена тенденция увеличения потери гетерозиготности практически во всех изучаемых локусах при III-IV стадиях болезни. Не выявлено корреляции между степенью дифференцировки опухолей и количеством делеций во всех изучаемых локусах. При анализе результатов 5-летней общей и безрецидивной выживаемости оказалось, что имеются достоверные различия между группами пациентов в опухоли которых определялись делеции и без таковых в локусах 11p15 и 17q12-21.

Заключение. Полученные данные о разнице в частоте потери гетерозиготности в злокачественных новообразованиях яичников позволяют более полно охарактеризовать отдельные гистологические типы опухолей с молекулярно-генетической точки зрения, определить локусы, содержащие онкогены и гены-супрессоры, участвующие в канцерогенезе при РЯ, с клинической точки зрения - выделить группу пациентов с неблагоприятным прогнозом.

А.А. Панкратов¹, Т.Н. Андреева¹, Р.И. Якубовская¹, Д.Ю. Логунов², М.М. Шмаров², А.Д. Каприн¹

ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ГЕНОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ С АДЕНОВИРУСНЫМ НОСИТЕЛЕМ

¹ФГБУ «ФМИЦ им. П.А.Герцена» МЗ РФ, Москва

²ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» МЗ РФ, Москва

Цель исследования. Оценка общетоксических свойства ряда генотерапевтических препаратов, где в качестве носителя генетического материала использовался модифицированный аденовирус 5-го серотипа.

Материалы и методы. Исследовали препараты АдеЛакт (экспрессирующий ген лактоферрина человека), АдеВаск (экспрессирующий гены фактора роста эндотелия сосудов и ангиогенина человека) и АдеВакФлю (экспрессирующий гены гемагглютининов вирусов гриппов). Эксперименты проводили на мышах, крысах, морских свинках и кроликах. Исследования проводили с использованием методов экспериментальной токсикологии.

Результаты. При изучении «острой» токсичности установлено, что МПД препаратов АдеЛакта и АдеВаска превышала эквитерапевтическую дозу для человека (ЭТД_ч) в 50 – 100 раз; КВЧ – 1 – 2, а нетоксическая максимально введенная доза препарата АдеВакФлю превышала ЭТД_ч более чем 3000 раз.

При изучении «хронической» токсичности показано, что препараты АдеЛакт и АдеВаск в высокой токсической дозе (ВТД=МПД), которая превышала ЭТД_ч в 100 раз, оказывали умеренное и обратимое токсическое действие на легкие, печень и почки. Применение препарата АдеВакФлю в дозе, превышающей ЭТД_ч в 1428 раз, по данным клинико-лаборных и патологоанатомических исследований (включающих гистологические исследования) не оказывало токсического действия на внутренние органы и системы организма.

Заключение. Таким образом, препараты АдеЛакт и АдеВаск по степени опасности «острого» токсического действия являются «малоопасными лекарственными средствами», а «хронического» – «умеренно опасными». Препарат АдеВакФлю охарактеризован как «малоопасное лекарственное средство».

И.В. Пантющенко¹, С.И. Тихонов¹, П.В. Островерхов¹, А.В. Морозова¹, П.Г. Рудаковская², А.В. Старовойтова³, А.Г. Мажуга², М.А. Грин¹

НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫЕ ИК-ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ БАКТЕРИОХЛОРОФИЛЛА *a* ДЛЯ ФДТ РАКА

¹МИТХТ имени М.В. Ломоносова, Москва

²МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

³МРНЦ им. А.Ф. Цыба, Обнинск, Калужская обл.

Актуальность. Основными методами лечения в онкологии являются хирургическое вмешательство, лучевая терапия и химиотерапия. Однако в последние два десятилетия все большее распространение получают новые методы, среди которых следует отметить фотодинамическую терапию (ФДТ), которая является результатом комбинированного действия трех нетоксичных компонентов – фотосенсибилизатора, света и кислорода. Применение наночастиц золота с иммобилизованными на них фотосенсибилизаторами открывает новые возможности для повышения результативности фотодинамической терапии. Наночастицы золота обладают целым рядом уникальных характеристик, таких как оптические свойства, прочность, высокая площадь поверхности, химическая инертность и способность противостоять окислению даже в ультрадисперсном (наноразмерном) состоянии.

Материалы и методы. В настоящей работе получено новое серосодержащее производное бактериохлорофилла *a*. Последний был выделен из биомассы несерных пурпурных бактерий *Rhodobacter capsulatus* штамм В10. Предлагаемый фотосенсибилизатор представляет собой *N*-аминобактериопурпуринимид, экзоциклическая аминогруппа которого ацилирована остатком липоевой кислоты, являющейся биогенным соединением, выполняющим в организме функцию кофактора пируватдегидрогеназного и альфа-кетоглутаратдегидрогеназного комплексов. Благодаря наличию дисульфидной группировки в молекуле липоевой кислоты, пигмент приобрел аурофильные свойства и был иммобилизован на поверхности наночастиц золота (НЧ-Au) за счет образования связей S-Au. Форма и размеры полученных частиц с иммобилизованным фотосенсибилизатором (ФС-Au) определены методами динамического светорассеяния (ДСР) и просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ). Наноструктурированный ФС представляет собой сферы с гидродинамическим диаметром 100-110 нм, поглощает свет в области 824 нм и интенсивно флуоресцирует при 830 нм, что позволило изучить кинетику его распределения в органах, здоровых и опухолевых тканях у животных-опухоленосителей.

Результаты и выводы. Сравнение биологических свойств свободного (ФС) и иммобилизованного (ФС-Au) пигментов в экспериментах на крысах с саркомой М-1 показало, что иммобилизация бактериопурпуринимид на НЧ золота увеличивает время циркуляции наноструктурированного ФС в кровотоке и повышает его тропность к опухоли за счет неспецифического таргетинга, включающего экстравазацию наночастиц, нагруженных пигментом, из дефектных сосудов опухоли.

И.А. Пасова, Е.В. Абакушина, Ю.В. Маризина, Н.В. Селиванова, Д.В. Кудрявцев, А.Д. Каприн ВЛИЯНИЕ ИММУНОТЕРАПИИ НА ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРОВ NKG2D И ИХ ЛИГАНДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ МЕЛАНОМОЙ

МРНЦ им. А.Ф. Цыба - филиал ФГБУ «ФМИЦ им. П.А. Герцена» Минздрава России, Обнинск, Калужская обл.

Актуальность. Методы иммунотерапии (ИТ) направлены на активацию противоопухолевой активности и усиление эффекторного звена иммунного ответа. Стресс-индуцированные молекулы MICA, появляющиеся на поверхности опухолевых клеток при их трансформации и участвуют в противоопухолевом иммунном ответе за счет активации NK-клеток через NKG2D.

Цель и задачи. Оценить экспрессию NKG2D на лимфоцитах и уровень лигандов MICA в сыворотке крови больных меланомой до и после проведения ИТ активированными лимфоцитами.

Материалы и методы. Сопроводительная ИТ активированными лимфоцитами проводилась 20 больным с метастатической меланомой. Уровень MICA оценивали с помощью ИФА, количество NK-клеток и рецептора NKG2D определяли с помощью проточной цитометрии.

Результаты. До лечения среднее количество циркулирующего MICA в сыворотке крови больных составило 1948 пг/мл. У 15 % пациентов уровень регуляторных молекул не превышал контрольных значений, у 70 % пациентов варьировал от 1000 – 3000 пг/мл, у 15 % – превышал 5000 пг/мл. После сопроводительной ИТ уровень MICA увеличился у 28,6 % больных, что было связано с прогрессией заболевания, и не изменился у 42,8 %, что характеризовалось стабилизацией процесса. Среднее содержание активирующего рецептора NKG2D на всех лимфоцитах не изменилось, а на NK-клетках несколько снизилось с 16 % до 13 %, что возможно связано с их ингибированием за счет sMICA.

Выводы. У больных меланомой уровень sMICA резко возрастает. При увеличении уровня sMICA до 5000 пг/мл у больных меланомой отмечается рецидив заболевания, несмотря на проведенное лечение.

Э.Р. Переверзева¹, В.Ю. Балабаньян², С.Э. Гельперина³

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА ДОКСОРУБИЦИН НАНОСОМАЛЬНЫЙ

¹ФГБНУ «НИИНА», Москва

²ООО «Технология лекарств», Москва

³ООО «Наносистема», Москва

Цель исследования. Оценка влияния препарата Доксорубицин наносомальный (НаноДокс) (ООО «Технология лекарств», Россия) на структуру внутренних органов кроликов в сравнении с препаратом Адрибластин быстрорастворимый (Актавис, Италия) (Адр).

Материалы и методы. Исследования проведены на самцах и самках кроликов породы Советская Шиншилла. Препараты вводили внутривенно ежедневно 30 дней в дозах, суммарно составляющих ЛД₅₀ и МПД. На 1 и 30 сутки после курса животных вскрывали. Участки органов и тканей подвергали патоморфологическому исследованию.

Результаты. Показано, что основными видами побочного действия НаноДокс, также, как Адр, являются кардио-, гепато-, нефро-, гонадо- и гастроинтестинальная токсичность. Признаки повреждения миокарда под действием НаноДокс были выражены значительно слабее. Особенность реакции ткани печени на введение НаноДокс - активация купферовских клеток. По сравнению с Адр, НаноДокс в меньшей степени повреждал канальцевую, но в большей – клубочковую систему почки. В отличие от Адр, применение НаноДокс не вызывало деструктивных изменений в семенниках.

Выводы. Изменения структуры внутренних органов кроликов, возникающие под действием НаноДокс, зависят от величины примененной дозы и носят обратимый характер. Препарат рекомендован для клинических испытаний.

Э.Р. Переверзева¹, Е.В. Возняковская¹, Т.Б. Переверзева¹, В.Ю. Балабаньян², В.А. Разживина²,
С.Э. Гельперина³, И.Д. Трещалин¹

ХРОНИЧЕСКАЯ ТОКСИЧНОСТЬ ПРЕПАРАТА ДОКСОРУБИЦИН НАНОСОМАЛЬНЫЙ НА КРОЛИКАХ

¹ФГБНУ «НИИНА», Москва

²ООО «Технология лекарств», Москва

³ООО «Наносистема», Москва

Цель исследования. Изучение хронической токсичности препарата Доксорубицин наносомальный (НаноДокс) (ООО «Технология лекарств», Россия) в сравнении с препаратом Адрибластин быстрорастворимый (Pfizer, Italy) (Адр).

Материалы и методы. Исследования проведены на самцах и самках кроликов породы Советская Шиншилла. Препараты вводили внутривенно в краевую вену уха ежедневно 30 дней в дозах, суммарно составляющих ЛД₅₀ и МПД. Параметры исследования: изменение массы тела, ЭКГ, клинический и биохимический анализ крови, суточный диурез, клинический анализ мочи.

Результаты. Установлено, что введение НаноДокс хорошо переносится животными. В отличие от Адр, снижение массы тела у животных, получавших НаноДокс, было отмечено только у самок. Под действием НаноДокс лейкоцитопения развивалась на более поздние сроки и сохранялась менее длительно. Оба препарата вызывали повышение активности АСТ. Курсовое введение Адр приводило к развитию сердечной недостаточности, что выразилось в изменениях ЭКГ и уменьшении массы сердца. Кардиотоксического действия НаноДокс по этим показателям не выявлено. Применение НаноДокс не приводило к развитию алопеции.

Выводы. По токсическим свойствам НаноДокс обладает преимуществами по сравнению с Адр.

Э.Р. Переверзева¹, М.И. Трещалин¹, К.К. Николаева¹, Н.В. Ерёмкин¹, В.Ю. Балабаньян², В.А. Разживина², С.Э. Гельперина³, И.Д. Трещалин¹

ХРОНИЧЕСКАЯ ТОКСИЧНОСТЬ ПРЕПАРАТА ДОКСОРУБИЦИН НАНОСОМАЛЬНЫЙ НА КРЫСАХ

¹ФГБНУ «НИИНА», Москва

²ООО «Технология лекарств», Москва

³ООО «Наносистема», Москва

Цель исследования. Изучение хронической токсичности препарата Доксорубицин наносомальный (НаноДокс) (ООО «Технология лекарств») в сравнении с субстанцией доксорубидина (Докс).

Материалы и методы. Исследования проведены на крысах линии Wistar. Препараты вводили интраперитонеально ежедневно 30 дней в дозах, суммарно составляющих ЛД₅₀, МПД, ½ МПД. Параметры исследования: масса тела, ЭКГ, клинический и биохимический анализ крови, суточный диурез и клинический анализ мочи.

Результаты. Животные хорошо переносили введения препаратов, нормально прибавляли в массу тела. В отличие от Докс, применение НаноДокс не приводит к развитию тахикардии и увеличению интервала QT. Уменьшение общего количества лейкоцитов у крыс, получавших НаноДокс в дозах, суммарно составляющих МПД и ЛД₅₀, было обнаружено только на 1 сутки после курса, тогда как у животных, получавших Докс, оно возникало уже во время курса и сохранялось в течение 10-15 дней. В отличие от Докс, применение НаноДокс не приводило к развитию эритроцитопении. Оба препарата вызывали повышение активности АСТ.

Выводы. По сравнению с субстанцией Докс, гематотоксичность НаноДокс выражена слабее, кардиотоксичность не выявлена.

А.Д. Перенков, Д.В. Новиков, А.В. Алясова, А.Ю. Барышников, В.В. Новиков

УРОВЕНЬ мРНК CD38 В ОПУХОЛЕВЫХ ОЧАГАХ БОЛЬНЫХ РАКОМ ТОЛСТОЙ КИШКИ

¹Нижегородский государственный университет им Н.И. Лобачевского, Н. Новгород

²ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Актуальность. Молекула CD38 обладает ферментативной активностью в отношении цАДР и является молекулой адгезии. Экспрессия белка CD38 на мембране клеток используется в качестве прогностического и диагностического маркера при лейкозах, миеломе и хроническом лимфолейкозе.

Цель работы. Изучение уровня мРНК CD38 в опухолевых очагах больных раком толстой кишки. **Материалы и методы.** В работе использовали 54 образца опухоли больных раком и 6 перевиваемых линий опухоли толстой кишки. Уровень мРНК CD38 исследовали с помощью ПЦР в реальном времени. **Результаты.** В опухолевых очагах больных раком толстой кишки полноразмерная форма мРНК CD38 присутствует в 78 % случаев, альтернативная лишь в 52 % случаев. Уровень мРНК CD38 в опухолевых очагах в 7 – 9 раз ниже, чем в периферической крови тех же больных. Уровень полноразмерной формы мРНК выше уровня альтернативной во всех очагах опухоли больных. В клеточных линиях, имеющих происхождение из опухоли толстой кишки, уровень обеих форм мРНК гена CD38, ниже чем в очагах опухоли больных в 5 – 6 раз.

Выводы. Полученные результаты могут указывать на неоднородность очагов опухоли. Так, известно присутствие инфильтрирующих опухоль Т-лимфоцитов, которые несут молекулу CD38.

А.Д. Перенков¹, Д.В. Новиков¹, С.В. Шумилова¹, Н.Н. Гурина¹, А.Ю. Барышников², В.В. Новиков¹

ЭКСПРЕССИЯ МИНИАНТИТЕЛА ПРОТИВ МУЦИНА 1 В КЛЕТКАХ E.COLI

¹Нижегородский государственный университет им Н.И. Лобачевского, Н. Новгород

²ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Актуальность. Муцин 1 (MUC1) характеризуется гиперэкспрессией и измененным профилем гликозилирования в клетках большинства карцином. Эти свойства позволяют использовать MUC1 в качестве перспективного антигена для иммунотерапии рака.

Цель исследования. Получить миниантитела против MUC1.

Материалы и методы. В работе использовали гибридому ICO-25, продуцирующую моноклональные антитела против MUC1, предоставленные ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина».

Результаты. Были определены нуклеотидные последовательности мРНК, кодирующие переменные регионы легкой и тяжелой цепи антител. Методом ПЦР получена генетическая конструкция, в которой легкая и тяжелая цепи объединены в одну молекулу через шарнирный регион. Полученную кДНК лигировали с плазмидой pET22b и использовали для экспрессии миниантитела против MUC1 в штаммах E.coli BL21Codon plus (DE3), Lemmo21 (DE3) и Rosetta2 (DE3).

Выводы. Сравнение продукции рекомбинантного миниантитела между штаммами E.Coli методом электрофореза в ПААГ показало, что наибольшее количество белка регистрировалось в штамме BL21Codon plus (DE3). В настоящее время проводится оптимизация экспрессии и разработка методов очистки миниантитела против MUC1.

П.С. Петров, Н.А. Пятаев, В.А. Васин, А.А. Буртасов, О.В. Минаева, А.В. Кокорев, А.В. Заборовский

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА ОРМУСТИН В БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДАХ С ПОМОЩЬЮ ВЭЖХ С МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ

ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарева», Саранск

Цель работы. Разработка метода количественного определения концентрации противоопухолевого препарата «Ормустин» в биологических средах.

Материалы и методы. Ормустин представляет собой производное нитрозометилмочевины, представленное двумя изомерами: (N^δ-нитрозо-N^δ-[N'-(2-хлорэтил)карбамоил]-L-орнитин и N^δ-[N'-нитрозо-N'-(2-хлорэтил)карбамоил]-L-орнитин). Особенности субстанции Ормустина, которые технически усложняют его количественное определение в биосредах, являются: 1) химическая нестабильность при комнатной температуре; 2) наличие двух изомеров, обладающих различной химической устойчивостью. При хроматографическом определении Ормустина с помощью УФ-детектирования в водном растворе определяется 2 пика, соответствующих первому и второму изомерам, причем площадь пиков пропорциональна их концентрации. Как известно, УФ-детектирование неприменимо для белок-содержащих сред и требует экстракции аналита из плазмы. Однако вследствие нестабильности Ормустина обеспечить его адекватную жидкостную экстракцию из плазмы не удалось, поэтому для выделения был использован метод ультрафильтрации. Хроматографирование ультрафильтрата с УФ-детектированием оказалось непригодным вследствие наличия большого количества примесей, и для анализа был использован масс-спектрометрический детектор, который обеспечивал хорошую чувствительность и достаточный диапазон линейности. При масс-спектрометрическом детектировании площади пиков изомеров ормустина были пропорциональны не только концентрации, но и зависели от сродства молекул к ионизации и стабильности образующихся молекулярных ионов. Это требовало дополнительного подбора параметров ионизации, обеспечивающих соотношение площадей пиков, пропорциональное концентрации изомеров. В итоге были подобраны следующие параметры хроматографирования: колонка Kromasil 100 C18, 150*2 мм, подвижная фаза этанол – ацетат аммония (рН 6,2) (10:90), ионизация – ESI (газ-небулайзер – азот при 350 °С, напряжение на капилляре – 3 кВ, напряжение на конусе – 40 В, детектирование: по положительному иону m/z=267); время удержания Ормустина-I ~ 4,6 мин., Ормустина-II ~ 6,6 мин. при T=25 °С.

Результаты и выводы. Разработан метод количественного определения противоопухолевого препарата «Ормустин» в биологических средах с помощью ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием. Нижний предел количественного определения составил 40 нг/мл для изомера I и 20 нг/мл для изомера II, диапазон линейности 40 – 100000 нг/мл для изомера I и 20 – 50000 нг/мл для изомера II.

Работа выполнена в рамках Госзадания ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарева. Проект № 2952

Е.А. Плотникова¹, Н.Б. Морозова¹, А.П. Ластовой², Е.А. Макарова², Е.А. Лукьянец², Р.И. Якубовская¹

ПРЕИМУЩЕСТВА ДЛИННОВОЛНОВЫХ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ

ПРИ ЛЕЧЕНИИ ОПУХОЛЕЙ БОЛЬШОГО РАЗМЕРА

¹ФГБУ «ФМИЦ им. П.А. Герцена» Минздрава РФ, Москва

²ФГУП ГНЦ НИОПИК, Москва

Актуальность. На протяжении последнего десятилетия ведётся активный поиск фотосенсибилизаторов (ФС) для фотодинамической терапии (ФДТ), поглощающих в дальней красной и ближней инфракрасной областях спектра, продукты облучения которых способны воздействовать на опухолевую ткань на глубине более 2 см, что открывает возможность лечения объемных и глубокозалегающих злокачественных новообразований.

Задачи исследования. Сравнительное изучение эффективности ФДТ с использованием нового ФС тетра-3-пиридилбактериохлорина ($\lambda_{\max} = 747$ нм) и официального препарата на основе хлорина e_6 «Радахлорин» ($\lambda_{\max} = 662$ нм) у животных с опухолью большого размера.

Материалы и методы. ФДТ проводили у мышей F1 с саркомой S37 объёмом более 400 мм³, привитой подкожно на бедро, при полипозиционном облучении светодиодными источниками ($\lambda = 740 \pm 28$ нм и 662 ± 14 нм, соответственно) при плотности энергии на 1 поле 90 Дж/см², Σ доза света – 270 Дж/см².

Результаты. При оптимальных режимах проведения ФДТ выявлена значительно более высокая противоопухолевая активность тетра-3-пиридилбактериохлорина (ТРО 86 – 100 %, УПЖ 54 – 117 % и КИ 17 – 40 %) по сравнению с препаратом «Радахлорин» (ТРО 23 – 81 %, УПЖ 23 – 37 % и КИ – 0 %).

Выводы. Приведены экспериментальные доказательства преимущества длинноволнового ФС тетра-3-пиридилбактериохлорина по сравнению с «Радахлорином» при лечении опухолей большого размера.

Н.В. Позднякова, А.В. Смирнова, О.О. Рябая

МИЦЕЛЛЯРНЫЕ ФОРМЫ РЕНТГЕНОКОНТРАСТНЫХ ПРЕПАРАТОВ

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Актуальность. Использование рентгеноконтрастных веществ для диагностических и терапевтических целей нашло широкое применение в практике. В настоящее время ведется разработка новых препаратов, обладающих улучшенными свойствами.

Цель и задачи. Получение мицеллярных форм рентгеноконтрастных препаратов со сниженной общей токсичностью и увеличенным временем циркуляции в крови с использованием ретиноевой кислоты.

Материалы и методы. Конденсация ретиноевой кислоты с комплексообразователем (ДТПА) осуществлялась в два этапа. Сначала получали аминоксодержащее производное ретиноевой кислоты, затем проводили реакцию с диангидридом ДТПА. Для контроля этапов синтеза использовался адаптированный метод определения аминоксодержания. Состав конъюгата определяли спектрофотометрически с помощью тестового связывания с ионами меди. Мицеллы получали стандартным методом вытеснения органического растворителя из двухфазной системы с последующим диализом против фосфатно-солевого буфера. Размер наночастиц определяли методом динамического светорассеяния.

Результаты и выводы. Получен мицеллярный препарат, содержащий мицеллообразующее вещество полуксамер F-127 и рентгеноструктурный компонент – конъюгат ретиноевой кислоты с хелатором ДТПА в комплексе с гадолинием. Эффективность включения конъюгата в мицеллы составляла от 40 до 87%. Препарат обладал узким диапазоном распределения наночастиц по размеру со средним диаметром 118 нм. Стабилен при хранении в течение как минимум 2 недель.

Н.В. Полуконова¹, Н.А. Наволокин¹, М.А. Барышникова², Э.Ш. Соломко², Е.В. Степанова², О.О. Рябая², Г.Н. Маслякова², А.Ю. Барышников²

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ

ФЛАВОНОИДСОДЕРЖАЩИХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ IN VITRO

¹Государственный медицинский институт им. В.И. Разумовского, Саратов

²ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», Москва

Цель исследования. Изучить противоопухолевую активность растительных экстрактов, содержащих флавоноиды: бессмертника песчаного (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench.), аврана лекарственного (*Gratiola officinalis* L.) и антоциановых форм кукурузы обыкновенной (*Zea mays* L.)

Материалы и методы. Сырье собрано на территории Саратовской области, экстракты получены разработанным нами способом (Полуконова и др., 2012, 2013; Патент РФ № 2482863). Исследовали разные концентрации экстрактов. В исследованиях использовали культуры опухолевых клеток человека: Т-клеточный лимфобластный лейкоз Jurkat, аденокарциному молочной железы MCF-7, карциному легкого A549, карциному простаты PC-3, карциному толстой кишки HCT-116, карциному молочной железы человека SK-BR-3, карциномы почки человека Сак-1 и Sn12с. Определение клеточной гибели проводили методом двойного окрашивания аннексин-ом и пропидием йодидом на проточном цитофлуориметре (FACSCantoII, Beckton Dickenson). Также анализировали клетки, окрашенные Ноешат, используя следующие показатели: среднее число клеток в поле зрения; активность роста культуры; абсолютное число митозов в поле зрения; процент клеток в митозе (общего числа клеток); индекс митотической активности; абсолютное число апоптозов в поле зрения; процент клеток в апоптозе (от общего числа клеток), индекс апоптотической активности; процент клеток с пикнозом ядра от общего числа клеток с признаками апоптоза; процент апоптотических телец от общего числа клеток с признаками апоптоза.

Результаты и выводы. Экстракты бессмертника, аврана и антоциановой кукурузы обладают противоопухолевой активностью in vitro. Активность изученных экстрактов при разных концентрациях в отношении разных клеточных линий неодинаковая. Экстракты бессмертника и аврана оказывали наиболее выраженное действие на опухолевые клетки. Перспективно дальнейшее исследование механизмов противоопухолевого действия экстрактов и их фракций.

И.Р. Просалкова¹, Ю.М. Букреев¹, Н.К. Власенкова¹, Л.Т. Мамедова¹, В.В. Решетникова¹, Н.Ю. Соколов², А.В. Сергеев

ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ ПРИРОДНОГО ЛИКОПИНА

¹ФГБНУ «РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА», МОСКВА

²ФГУ ГВКГ ИМ. Н.Н. БУРДЕНКО, МОСКВА

Актуальность. Каротиноид ликопин (ЛП) широко представлен в растительном мире и обладает экспериментально доказанной антиканцерогенной и противоопухолевой активностью.

Цель исследования. Изучение медико-биологических свойств разработанных нами на основе ЛП препаратов.

Материалы и методы. Препарат «ОлеоРОНЦ» (ОЛР) разработан на основе ЛП масел томатов и шиповника, «Коэнзим Q-10 плюс» (КЭП) разработан на основе ЛП и тыквенного масла, «Томатол» разработан на основе масла томатов. Со всеми перечисленными препаратами проведены необходимые фармацевтические исследования. Препараты разрешены для широкого использования через аптечную сеть. Антиканцерогенную, антимуtagenную и иммуномодулирующую активность определяли по ранее опубликованным методам.

Результаты. При систематическом ежедневном введении крысам Вистар вместе с кормом ОЛР или ЛП, или КЭП в различных дозах наблюдали снижение на 20 – 40 % частоты появления опухолей пищевода, желудка и печени, индуцированных химическим канцерогеном, увеличение на 15 – 35 % латентного периода возникновения опухолей и удлинение срока жизни животных. Препараты «Томатол» и ОЛР снижали на 20 – 35 % частоту хромосомных aberrаций клеток костного мозга мышей и крыс, индуцированных циклофосфаном или химическим канцерогеном. Все препараты в различных дозировках увеличивали в 1,5 – 3 раза пролиферативную активность спленоцитов, цитотоксическую активность Т-киллеров и перитонеальных макрофагов. Все препараты при систематическом введении животным повышали антиоксидантный и антитоксический потенциал организма.

Выводы. Разработанные нами препараты можно рассматривать как перспективные потенциальные средства для химиопрофилактики рака.

В.А. Пурцхванидзе, П.Г. Орлова, Д.А. Сбоева

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРЕДРАКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ВУЛЬВЫ В СОЧЕТАНИИ С ФОТОМОДИФИКАЦИЕЙ КРОВИ И БИОРЕВИТАЛИЗАЦИЕЙ ВУЛЬВЫ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ

ООО МЦВТ «ЛазерВита», Москва, Россия

Актуальность. К предраковым заболеваниям вульвы относятся крауроз, лейкоплакия и остроконечные кондиломы (папилломы) вульвы. Этиология и патогенез этих заболеваний окончательно не установлены, часто у пациентов отмечается гипозестрогения и (или) нейроэндокринные нарушения, а также вирусная инфекция. Лейкоплакия и крауроз вульвы относятся к трудноизлечимым заболеваниям и почти в 50 % случаев приводит к раку вульвы.

Цель работы. Определение эффективности и безопасности фотодинамической терапии в сочетании с фотомодификацией крови и биоревитализацией вульвы гиалуроновой кислотой у пациентов с предраковыми заболеваниями вульвы.

Материалы и методы. Нами разработано комплексное лечение пациентов с фоновыми заболеваниями вульвы, сочетающее в себе несколько методов. Основным методом комплексного лечения являлась фотодинамическая терапия, обладающая цитотоксическим действием на предраковые и атипичные клетки. В качестве иммуномодулирующей терапии применялась фотомодификация крови. С целью профилактики проводилась биоревитализация вульвы гиалуроновой кислотой. Данное лечение проводилось 12 пациентам. Использовались фотосенсибилизаторы (ФС) Фотодитазин или Радахлорин. Способ введения – внутривенно, доза – 0,8 – 1,2 мг/кг, лекарственно-световой интервал – 3 часа, плотность энергии лазерного облучения – 150 – 200 Дж/см². Параллельно проводилась фотомодификация крови (6 – 10 курсов), ФС – Фотодитазин или Радахлорин, доза – 0,5 – 1,0 мг/кг, мощность на конце световода – 2,0 мВт., продолжительность процедуры – 20 – 30 мин.). Биоревитализация гиалуроновой кислотой проводилась раз в полгода препаратом «BELLCONTOUR GVISC» (доза 1,6 мл.).

Заключение. По сравнению с традиционными методами лечения, комплексная терапия пациентов с фоновыми заболеваниями вульвы является наиболее эффективной. Благодаря комплексному подходу к лечению таких пациентов появилась возможность не только сохранить анатомо-функциональную целостность органа, но и избавить пациента от тяжёлых клинических проявлений заболевания, приводящих к истощению нервной системы пациента. Данный метод может быть успешно применён в качестве профилактики рака вульвы.

Н.А. Пятаев, О.В. Минаева, Н.А. Зыряева, К.Г. Гуревич, А.В. Заборовский, А.В. Кокорев, А.А. Кладиев, П.П. Бычковский, М.Ю. Ревтович

ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМБИНАЦИИ СВОБОДНОЙ И ПОЛИМЕР-СВЯЗАННОЙ ФОРМ ПРОСПИДИНА С ДОКСОРУБИЦИНОМ У КРЫС С АСЦИТНОЙ ГЕПАТОМОЙ ЗАЙДЕЛА

ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарева», Саранск

ООО «Биотехнологическая компания ТНК», Москва

Белорусский Госуниверситет, Минск

Цель работы. Исследовать противоопухолевую активность и оценить побочные и токсические эффекты комбинаций проспидин+доксорубицин и проспидин-гидрогель+доксорубицин у крыс с трансплантированной асцитной гепатомой Зайдела.

Материал и методы. Исследования выполнены на 72 белых лабораторных крысах обоего пола с трансплантированной асцитной гепатомой Зайдела. В зависимости от характера терапии животные были разделены на 6 групп (1 контрольную и 5 опытных, по 12 особей в каждой). В контрольной группе животные лечения не получали, в опытных проводилась химиотерапия по следующим схемам: 1-я – проспидин, водный раствор, 2-я – проспидин-гидрогель; 3-я – доксорубицин; 4-я – проспидин + доксорубицин; 5-я – проспидин-гидрогель + доксорубицин. При монокимиотерапии использовали максимально переносимые, при комбинированной химиотерапии – половинные от максимально переносимых доз препаратов. Для оценки противоопухолевой активности исследовали: летальность, летальность от прогрессирования опухоли, частоту полного излечения; среднюю продолжительность жизни и увеличение продолжительности жизни. Для оценки побочных и токсических эффектов проводили исследование клеточного состава и биохимических показателей крови.

Результаты и выводы. Установлено, что при асцитной гепатоме Зайдела комбинация водного раствора проспидина с доксорубицином по противоопухолевой активности не превосходит монотерапию доксорубицином. Побочные эффекты данной комбинации соответствуют таковым у доксорубицина и представлены лейко- и тромбоцитопенией и нефропатией. Эффект комбинации проспидин+доксорубицин можно охарактеризовать как аддитивный (сумму эффектов каждого из препаратов в отдельности). Учитывая сохранение токсичности, можно констатировать, что данная схема не обладает преимуществами перед монокимиотерапией ДР. При комбинации проспидин-гидрогеля с доксорубицином отмечался синергизм эффектов: противоопухолевый эффект комбинации по влиянию на летальность достоверно более выражен, чем у каждого из ее компонентов. Комбинация отличалась достоверно меньшей гематотоксичностью по сравнению с наиболее токсичным из ее составляющих.

Работа выполнена в рамках Госзадания ФГБОУ ВПО «МГУ им.Н.П.Огарева», код проекта 2952.

Н.А. Пятаев, О.В. Минаева, Г.С.Столяров, О.А.Куликов, Н.Н. Зыряева, А.В. Кокорев, А.В. Заборовский, С.А. Фирстов, Р.М. Евсеев, В.П. Краснов

ФАРМАКОКИНЕТИКА И ТКАНЕВОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ХИМИОПРЕПАРАТА ОРМУСТИН

ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарева», Саранск

ФГБУН ИОС УрО РАН, Екатеринбург

Цель работы. Исследование фармакокинетики и тканевого распределения противоопухолевого химиопрепарата Ормустин.

Материал и методы. В исследовании использован опытный образец препарата Ормустин (ИОС УрО РАН), который представляет собой производное природной аминокислоты *L*-орнитина и состоит из двух изомеров, соотношение которых в препарате составило 76,7:23,3. Исследования выполнены на мышах С57В6 с перевитой карциномой легкого Льюиса. Животным на 8-е сутки после трансплантации опухоли внутривенно вводили Ормустин в дозе 40 мг/кг. Концентрацию препарата определяли на следующих временных точках: 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120 и 180 минут (по 6 животных на точку). Кинетика исследовалась в следующих органах и биологических жидкостях: плазма крови, легкое, печень, селезенка, почка, головной мозг, опухолевая ткань, моча, фекалии. Ормустин из плазмы и гомогенатов органов выделяли методом ультрафильтрации. Анализ концентрации проводили методом ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием (хроматографический комплекс Копик К2). В пробах определяли оба изомера Ормустина. Фармакокинетические константы рассчитывали с помощью программы Kinetica.

Результаты и выводы. Кинетические кривые обоих изомеров Ормустина в плазме и в других исследованных органах наиболее адекватно описывались биэкспоненциальной моделью. Концентрация ормустина в плазме крови снижалась экспоненциально. Ормустин достаточно быстро выводился из плазмы крови. Значения фармакокинетических констант в плазме для Ормустина I составили: C_{max} – $33,9 \pm 11,4$ мкг/мл, AUC – 652 ± 210 мкг*мин/мл, $t_{1/2}$ – 340 ± 100 мин, Cl – $0,0008 \pm 0,0003$ мл/мин/г. Значения фармакокинетических констант в плазме для Ормустина II были равны: C_{max} – $10,2 \pm 3,8$ мкг/мл, AUC – 218 ± 83 мкг*мин/мл, $t_{1/2}$ – 80 ± 17 мин, Cl – $2,90 \pm 1,20$ мл/мин/г. Получены следующие значения коэффициентов ткань/плазма по AUC : почка – 5,71, опухолевая ткань – 1,66, печень – 1,10, легкое – 1,08, селезенка – 0,94, головной мозг – 0,64. Экскреция препарата с мочой составила 32,1 – 35,3 % от введенной дозы соответственно для первого и второго изомеров. В фекалиях препарат не определялся. Анализ дозозависимых констант Ормустина показал, что системная кинетика препарата сходна с рядом других производных нитрозометилмочевины (кармустином, лизомустином). Отличительной особенностью Ормустина является несколько большая степень проникновения в ткань мозга.

А.О. Райков^{1,2}, А.А. Матюшин¹, И.И. Краснюк¹

ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ ЛИПОСОМАЛЬНОГО МИТОКСАНТРОНА

¹Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

²ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва, Россия

Цель исследования. Получение липосомальной лекарственной формы митоксантрона с диаметром везикул 100–115 нм методом экструзии.

Материалы и методы. Субстанция митоксантрона (1,4 – дигидрокси-5,8-бис[2-(2-гидроксиэтиламино) этиламино] – антрацен-9,10-диона дигидрохлорид) (ООО «Синбиас Фарма», Украина), Фосфатидилхолин (*S* PC-3)(Lipoid, Германия); 1,2-дистеароил-*sn*-глицеро-3-фосфоэтаноламин-N-карбонил-[метокси(полиэтиленгликоль)-2000] (PE 18:0/18:0 – PEG 2000) (Lipoid, Германия); Холестерин (Sigma aldrich, США). Липосомы получали методом обращения фаз с последующим пропусканием через поликарбонатные мембранные фильтры с диаметром пор 400, 200 и 100 нм в различных условиях, загрузка производилась с использованием градиента сульфата аммония. Очистка загруженных липосом от невключенного митоксантрона производилась методом гель-фильтрации на сорбенте G-50 standart (колонка C10/20). Анализ среднего диаметра полученных везикул и оценку их распределения по размерам проводили с использованием метода корреляционной спектроскопии светорассеяния (динамического лазерного светорассеяния) с помощью прибора Nicomp 380 Submicron Particle Sizer.

Результаты. При получении липосом были исследованы различные смеси липидов. Лучшими характеристиками (размер, процент включения) обладала смесь липидов следующего состава S PC-3:Chol: mPEG2000-DSPE (6:3:1). При пропускании данной смеси при температуре 25 °С получены липосомы с средним размером везикул 125±6 нм, размер липосом данной смеси липидов был уменьшен до 105±6 нм, использованием нагревания до температуры 55 °С в процессе экструзии. Оптимальные результаты загрузки липосом данного состава были получены при использовании 300 мМ сульфата аммония (pH 5,5) и инкубации липосом с митоксантроном при температуре 45 °С, в качестве загрузочного буфера использовался 10 мМ HEPES и 145 мМ раствор хлорида натрия (pH 8,2-8,4), весовое соотношения препарат : суммарные липиды составило 0,12:1.

Выводы. В результате исследования удалось получить липосомальную лекарственную форму митоксантрона с диаметром везикул 105±6 нм. Отработан оптимальный липидный состав для получения липосом заданного размера. Оптимизированна процедура загрузки липосом митоксантроном.

А.В. Решетников

СОВРЕМЕННЫЕ ОТЕЧЕСТВЕННЫЕ ИММУНОМОДУЛЯТОРЫ В ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

НИИ социологии медицины, экономики здравоохранения и медицинского страхования ГБОУ ВПО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России, Москва

Актуальность. В 2014 – 2015 гг. было проведено медико-социологическое исследование «Изучение мнения пациентов о работе медицинской организации, внедрении новых лекарственных средств и методов терапии».

Цель исследования. Изучение отношения пациентов к внедрению новых лекарственных средств и методов терапии.

Материалы и методы. Метод – анкетный опрос, выборка – 336 респондентов, имеющих онкологическое заболевание и получающих химиотерапию с включением в схему лечения иммуномодуляторов отечественного производства.

Результаты отражают высокий уровень удовлетворенности пациентов, получающих терапию препаратами «Рефнот®» и «Ингарон®», качеством жизни. Данные подтверждаются оценками пациентов таких индикаторов, как хорошая переносимость и низкая токсичность препаратов, сохранение физической и социальной активности, удобство и психологический комфорт приема, ценовое преимущество.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют об удовлетворенности пациентов результатами терапии и сохранении оптимального уровня качества жизни, что позволяет сделать вывод о более широком применении отечественных цитокинов «Рефнот®» и «Ингарон®» в онкологической практике.

В.Д. Румянцева¹, Ю.В.Алексеев², Н.М.Шумилова², Г.В. Пономарев¹, А.Е. Щелкунова¹

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ

ДЛЯ ФЛЮОРЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ КОЖИ

¹МИТХТ им. М.В. Ломоносова, Москва

²ФГБУ «ГНЦ лазерной медицины ФМБА», Москва

Цель исследования. Разработать фармацевтические композиции (ФК) на основе иттербиевых металлокомплексов порфиринов (ИКП), обладающих способностью накапливаться в очагах воспаления и пролиферации при различных кожных заболеваниях. Оценить их перспективы для применения в клинической практике.

Материалы и методы. Препарат №1: 0,05% раствор амфифильного комплекса Yb-2,4-диметоксигематопорфирина IX в кремофоре (гелеобразователь) с добавлением глицерина. Препарат № 2: 0,05% раствор амфифильного комплекса Yb-2,4-диметоксигематопорфирина IX кремофоре (гелеобразователь) с добавлением глицерина и титаноглицеросольвата аквакомплекса («Тизоль») в соотношении 9:1 (компоненты разрешены для клинического применения). Макетный вариант лазерно-волоконного флуориметра (ЛВФ) разработки ФИРЭ им. В.А. Котельникова РАН (диапазон измерения 975-985 нм). Волонтеры (больные с розацеа, аспе vulgaris, гемангиомами, кератомами, лазерными ожогами после удаления новообразований кожи, здоровые волонтеры в возрасте от 30 до 70 лет).

Результаты. Разработаны фармацевтические композиции с ИКП для применения у дерматологических больных в виде гелей. Выявлено, что однократное нанесение их в небольшом количестве на очаги поражения кожи при воспалительных процессах инфекционного и неинфекционного происхождения, а также некоторых новообразованиях и определение интенсивности флуоресценции в ближнем ИК-диапазоне через оптимальное время (40 мин.), показывает существенную разницу (в несколько раз) по сравнению со здоровой кожей. В процессе лечения по мере уменьшения воспалительных явлений (отеки, гиперемия), заживления эрозий интенсивность флуоресценции соответственно снижается.

Выводы. Разработанные фармацевтические композиции позволяют обеспечить быстрое проникновение в кожу, особенно, при ее повреждении или изменении барьерных свойств. Набор клинического материала при изучении данных процессов при различных дерматологических заболеваниях позволяет надеяться не только на контроль за эффективностью проводимой терапии, как в дерматологии, так и в косметологии, но и на дифференциальную диагностику.

В.Д. Румянцева¹, Ю.В.Алексеев², Г.В. Пономарев³, Л.В. Михалева², А.С. Горшкова¹,

О.Н. Старостин²

РАЗРАБОТКА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ КОМПОЗИЦИЙ

ДЛЯ ФЛЮОРЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ

ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК

¹МИТХТ им. М.В. Ломоносова, Москва

²ФГБУ «ГНЦ лазерной медицины ФМБА», Москва

³ФГБУ «ИБМХ им. В.Н.Ореховича» РАМН, Москва

Цель исследования. Разработать фармацевтические композиции (ФК) на основе иттербиевых комплексов порфиринов (ИКП), обладающих способностью накапливаться в очагах воспаления и пролиферации при заболеваниях слизистых оболочек. Оценить их перспективы для применения в клинической практике.

Материалы и методы. Препарат: 0,05% раствор амфифильного комплекса Yb-2,4-диметоксигематопорфирина IX на основе калгеля (гель стоматологический: лидокаина гидрохлорид 3,3 мг и цетилпиридиния хлорид 1 мг в 1 г). Макетный вариант лазерно-волоконного флуориметра (ЛВФ) разработки ФИРЭ им. В.А. Котельникова РАН (диапазон измерения 900 – 1100 нм). Волонтеры (больные с вульвовагинитом, здоровые волонтеры).

Результаты. Разработана фармацевтическая композиция с ИКП для применения на слизистых оболочках в виде геля. Выявлено, что однократное ее нанесение в небольшом количестве на очаги поражения при воспалительных процессах и определение интенсивности флуоресценции в ближнем ИК-диапазоне через оптимальное время (40 мин.), показывает существенную разницу, в несколько раз, по сравнению со здоровыми участками. В процессе лечения по мере уменьшения воспалительных явлений (отеки, гиперемия), заживления эрозий интенсивность флуоресценции соответственно снижается.

Выводы. Разработанная фармацевтическая композиция позволяет обеспечить быстрое проникновение в слизистые, особенно при их повреждении. Набор клинического материала при изучении данных процессов при различных заболеваниях позволяет надеяться не только на контроль за эффективностью проводимой терапии, но и на дифференциальную диагностику у гинекологических больных, в стоматологии и при ЛОР-заболеваниях. Оценка эффективности композиции позволит определить ее место при различных нозологических формах.

А.А. Русанов, О.Р. Мельников, А.С. Лапшин, Н.В. Казаков, А.В. Герасин, М.Г. Ковалев, А.Л. Акопов

ТАКТИКА ЭНДОСКОПИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ НЕОПЕРАБЕЛЬНОГО РАКА

ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И.П.Павлова Министерства здравоохранения России, Санкт-Петербург

Актуальность. Ежегодно более полумиллиона россиян заболевают раком, у 65 % он диагностируется в III – IV стадии.

Цели исследования. Разработать способы комбинированного эндоскопического лечения больных в комплексной терапии неоперабельного рака.

Материалы и методы. В ПСПбГМУ им. И.П. Павлова с 2008 г. наблюдались 173 больных раком III – IV стадии. Использовали оборудование “Olympus”, “Pentax”, “Милон Лазер”, “Endo-Flex”; отечественные фотосенсибилизаторы: “Радахлорин®”, “Фотодитазин®”. У 57 больных опухоли стенозировали просвет полого органа, что в 19 случаях потребовало неотложной реканализации одним из разработанных способов.

Результаты. Внедрен новый “Способ абляции образований, стенозирующих просвет полых органов. Патент № 2531974”, позволяющий использовать лазер в среде, не поддерживающей горение (N-19). 38 больным имплантировали непокрытый эндопротез, что позволило в динамике наблюдения проводить ФДТ и АПК (“Способ лечения центральных стенозирующих злокачественных опухолей трахеи и бронхов”, патент № 2533979). Все больные (N-173) получали ФДТ в импульсном режиме излучения лазера. Во всех наблюдениях в комплексную терапию входила ПХТ, таргетная, гормональная терапии. Лучевая терапия, в т.ч. брахитерапия, осуществлена 29 пациентам.

Выводы. Клиническое применение разработанных способов и методов лечения позволяет повысить эффективность радикальной и паллиативной терапии онкологических заболеваний III – IV стадии внутрипросветного рака.

О.Ю. Рыбалкина^{1,2}, Н.Н. Ермакова¹, Т.Г. Разина¹, Е.П. Зуева^{1,2}, Е.Г. Скурихи¹

СНИЖЕНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЦИКЛОФОСФАНА

НА КОСТНОМОЗГОВОЕ КРОВОТЕВОРЕНИЕ

С ПОМОЩЬЮ АЛЬГИНАТА НАТРИЯ (M=20-30 kDa)

У МЫШЕЙ С КАРЦИНОМОЙ ЛЕГКИХ ЛЬЮИС

¹НИИФ и РМ им. Е.Д. Гольдберга, Томск

²Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск

Цель исследования. Изучение возможности коррекции токсического влияния циклофосфана на систему крови мышей с помощью альгината натрия с молекулярной массой 20 – 30 kDa.

Материалы и методы. Эксперимент проведен на 86 мышах-самках линии C57BL/6 с перевитой внутримышечно карциномой легких Льюис (LLC). Альгинат натрия использовали в дозе 100 мг/кг per os с 7 сут после перевивки LLC. Циклофосфан вводили на 10 сут развития опухоли в дозе 125 мг/кг. Показатели периферической крови и костного мозга определяли на 1, 3, 5, 7 сут после инъекции цитостатика стандартными гематологическими методами.

Результаты. В результате развития опухолевого процесса у мышей с LLC в периферической крови регистрировался лейкоцитоз, преимущественно, за счет сегментоядерных нейтрофилов. В костном мозге мышей с опухолью на протяжении всего эксперимента общее количество миелокариоцитов было ниже фонового значения, что свидетельствует об истощении костномозгового пула. Под влиянием альгината натрия в периферической крови мышей с LLC снижалась выраженность лейкоцитоза, возникающего в результате развития опухоли, при этом клеточность костного мозга у получавших альгинаты мышей не менялась, наблюдалось лишь перераспределение отдельных форм. На 3 сут после однократной инъекции циклофосфана в периферической крови мышей с опухолью отмечалась выраженная лейкопения. При использовании альгината натрия в схеме химиотерапии выше оказалось как общее количество лейкоцитов, так и сегментоядерных нейтрофилов (в 2,6 и 3 раза) относительно таковых показателей в группе монокимиотерапии. Аналогичные данные получены и на 7 сут после введения цитостатика. Следует отметить, что увеличение общего количества лейкоцитов было обусловлено повышенным содержанием сегментоядерных нейтрофилов. Также отмечено защитное действие альгината в отношении нейтрофильных гранулоцитов в костном мозге мышей на 1 сут после введения циклофосфана.

Выводы. Таким образом, назначение альгината натрия с молекулярной массой 20 – 30 kDa животным с LLC препятствует опустошению костного мозга и приводит к стимуляции процесса регенерации гранулоцитарного ростка кроветворения, поврежденного однократным введением цитостатика.

О.О. Рябая^{1,2}, Т.А. Сидорова¹, А.Н. Иниаков¹, Ю.А. Хоченкова¹, Е.В. Степанова¹

БЛОКИРОВАНИЕ АУТОФАГИИ КАК НОВЫЙ ПОДХОД В ТЕРАПИИ МЕЛАНОМЫ

¹ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

²ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

Актуальность. Модуляция аутофагии рассматривается как новый перспективный подход к химиотерапии различных новообразований. В настоящее время разрабатываются экспериментальные основы ее использования для лечения меланомы в клинической практике.

Цель исследования. Оценить значимость ингибирования аутофагии хлорокином *in vitro* для повышения цитотоксичности паклитаксела на клеточных линиях метастатической меланомы (ММ) с разным статусом гена *B-RAF*.

Материалы и методы. В работе были использованы 11 клеточных линий ММ, полученных от пациентов. Цитотоксичность определяли МТТ-тестом, клеточную гибель – проточной цитометрией. Детекцию экспрессии мРНК *Beclin1* проводили методом ОТ-ПЦР, а его белка – вестерн-блоттингом. Для блокирования белка *Beclin1* использовали метод трансфекции. Активацию аутофагии определяли иммуноцитохимически антителами к LC3В.

Результаты. Мутации в гене *B-RAF* определяют уровень аутофагии в клетках ММ *in vitro*: базальный уровень в клетках *B-RAF^{V600}(mt)* был выше, чем в *B-RAF^{wt}(wt)*. *Mt*-линии были резистентны к действию паклитаксела, а ингибирование аутофагии хлорокином увеличивала цитотоксичность на 40 – 50 %. Хотя *wt*-клетки ММ были более чувствительны к паклитакселу, добавление ингибитора не влияло на гибель клеток. Блокирование *Beclin1* также показало увеличение цитотоксического эффекта у *mt*-клеток, но не влияло на *wt*-клетки. Изучение механизмов феномена показало вовлечение апоптоза.

Выводы. Комбинация паклитаксела и хлорокина является перспективным режимом терапии ММ у пациентов с *B-RAF^{V600}*. Эффективные комбинации требуют дальнейшего изучения.

А.В. Савинкова¹, О.И. Задорожная¹, Л.Р. Тилова¹, К.И. Кирсанов¹, А.М. Оглоблина¹, Г.А. Белицкий¹, И.В. Будунцова², М.Г. Якубовская¹, Е.А. Лесовая¹

СИНТЕЗ И ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ЭНАНТИОМЕРОВ CPdA IN VITRO

¹ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

²Northwestern University, Chicago, USA

Актуальность. Глюкокортикоиды (GC) являются важным компонентом химиотерапии гемобластозов. Терапевтическое действие GC реализуется посредством активации глюкокортикоидного рецептора (GR) по механизму транс-репрессии, развитие побочных эффектов связано с транс-активацией. Ранее нами было показано, что соединение класса селективных агонистов GR, CpdA, избирательно запускает транс-репрессию. CpdA представляет собой смесь двух энантиомеров, которые могут по-разному взаимодействовать с GR. Нами были впервые синтезированы энантиомеры CpdA, проведена оценка их цитотоксического действия по сравнению с рацематом, и их лигандных свойств.

Материалы и методы. Синтез энантиомеров был осуществлен на основании дигидроксилирования алкенов по Шарплессу; цитотоксический эффект определяли путем подсчета клеток. Лигандные свойства оценивали путем ПЦР-анализа экспрессии GR-зависимых и NF-kB-зависимых генов.

Результаты и выводы. Впервые синтезированы энантиомеры CpdA и показано, что их цитотоксический эффект сопоставим с цитотоксическим эффектом рацемата. Продемонстрировано, что S-энантиомер не вызывает транс-активации GR-зависимых генов или подавляет их экспрессию. Влияние энантиомеров на экспрессию генов CCND1 и CCND2 было неоднозначным.

А.Г. Сандалевская, Б.А. Минько, Р.М. Жабина, А.В. Мешечкин, В.Г. Красникова

ВОЗМОЖНОСТИ СОНОГРАФИИ

В ОЦЕНКЕ ЛОКОРЕГИОНАЛЬНЫХ РЕЦИДИВОВ РАКА ПРЯМОЙ КИШКИ И МОНИТОРИНГЕ НЕПОСРЕДСТВЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ

ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий», Санкт-Петербург

Задачи исследования. Изучение возможностей ультразвукового метода в исследовании больных с локорегиональными рецидивами рака прямой кишки и оценка результатов химиолучевой терапии.

Материалы и методы. Обследовано 13 пациентов с рецидивом рака прямой кишки, получавших химиолучевую терапию. Средний возраст больных 68 лет. Во всех случаях гистологическая форма опухоли была представлена аденокарциномой разной степени дифференцировки. Было проведено 20 ультразвуковых исследований различных локализаций локорегиональных рецидивов колоректального рака. Обследование выполнялось при поступлении в стационар и в конце первого этапа химиолучевой терапии на УЗ-системе «Aixplorer» в В-режиме с использованием гипогастрального, перенеального и внутривисцерального доступов. Оценивалась локализация образования, его размеры и контуры. Отмечали эхо-признаки инвазии в окружающие ткани, продолженного роста и изменения региональных лимфоузлов. Жесткостные характеристики образования оценивали методом эластографии сдвиговой волны. Для исключения отдаленных метастазов всем больным проводили ультразвуковое обследование органов брюшной полости.

Результаты. Локализация рецидивов непосредственно в зоне операции (анастомоз, ложе удаленной кишки) была выявлена у 2 пациентов. в клетчатке малого таза – у 9, в мягких тканях – у 2. Наименьший оцениваемый нами рецидив – локальное узловое образование в анастомозе после резекции прямой кишки размером 17мм. наибольший – рецидив в малом тазу размером 60×30 мм. При эластографии во всех случаях получали картирование красном цветом, что соответствовало высокой жесткости образования по сравнению с окружающими тканями. Цифровые значения плотности имели значительный разброс от 50 до 180 кПа. У всех больных, у которых патологический процесс затрагивал стенки кишки отмечались эхо-признаки злокачественного процесса – снижение эхогенности и утолщение стенок кишки до нарушения слоистой структуры стенок, сужение просвета. При УЗИ после проведенного химиолучевого лечения отмечалось уменьшение размеров образования (на 3 – 5 мм) и более отчетливая визуализация, что расценивалось как эхо-признаки локализации процесса и проявление положительной динамики. Сохранились снижение эхогенности, безструктурность и утолщение стенки кишки (что расценивается нами как постлучевые изменения), но контуры становились более четкими, ограниченными от окружающих тканей.

Вывод. Сонография является эффективным методом диагностики рецидивов рака прямой кишки и позволяет оценить результаты химиолучевого лечения.

М.С. Саяпина, А.А. Борунова, Д.А. Носов

СОДЕРЖАНИЕ CD4+CD25+ СУБПОПУЛЯЦИИ ЛИМФОЦИТОВ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРАПИИ ИНТЕРФЕРОНОМ-АЛЬФА У БОЛЬНЫХ МЕТАСТАТИЧЕСКИМ ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНЫМ РАКОМ

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Актуальность. Терапия интерфероном-альфа (ИНФ) остается возможной лечебной опцией у больных метастатическим почечно-клеточным раком (мПКР) с благоприятным прогнозом.

Цель исследования. Определить эффективность и переносимость ИНФ. Изучить динамику субпопуляции CD4+CD25+ лимфоцитов и ее связь с эффективностью терапии ИНФ.

Материалы и методы. В период с 2011 по 2014 г. 38 пациентов мПКР получали лечение ИНФ. У 30 пациентов терапия проводилась в 1 линии, у 8 – во 2 и более. Оценка иммунологических параметров осуществлялась в течение 1 недели до начала иммунотерапии, через 2 недели после начала и через 8 недель в период контрольного обследования. Иммунофенотип лимфоцитов оценивали методом многоцветной проточной цитометрии с использованием антител, в том числе к CD3, CD4, CD8, CD16, CD56, CD25.

Результаты. В группе из 30 больных, получавших ИНФ в первой линии, у 5 (16,6 %) зафиксированы частичные регрессии, у 21 (70 %) пациента наблюдались длительные стабилизации опухолевого процесса (>6мес). В группе из 8 пациентов, ранее леченных, у 3 пациентов (37,5 %) отмечена частичная регрессия. У 9 (23,7 %) пациентов отмечено прогрессирование. Медиана времени до прогрессирования составила 7,5 (2-12+) мес. У больных с частичным эффектом исходное содержание CD4+CD25+-популяции Т-лимфоцитов было практически в пределах донорских показателей (3,5±2,1 %) и составляло 4,4 %, у больных с прогрессированием исходное содержание этой субпопуляции клеток было в 3 раза выше – 12,1 %. При этом следует отметить тенденцию к снижению данной субпопуляции на фоне лечения в группе с клиническим эффектом.

Выводы. Исходно повышенное содержание субпопуляции CD4+CD25+ лимфоцитов в периферической крови больных может являться отрицательным прогностическим фактором иммунотерапии ИНФ. Вероятнее всего за счет иммунорегуляторной субпопуляции CD4+CD25+Foxp3+CD127^{low}-T-клеток (T-reg). Целесообразно дальнейшее исследование данной субпопуляции Т-клеток как потенциального маркера эффективности иммунотерапевтического подхода.

А.В. Сергеев¹, Т.А. Алиева¹, Ю.М. Букреев¹, И.М. Лученко¹, В.В. Решетникова¹, Н.Ю. Соколов², И.Ж. Шубина¹

МЕСТО РАСТИТЕЛЬНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ И КАРОТИНОИДОВ В ХИМИОПРОФИЛАКТИКЕ РАКА

¹ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

²ФГУ ГВКГ им. Н.Н. БУРДЕНКО, МОСКВА

Актуальность. Растительные полисахариды (ПС) в отличие от каротиноидов (КР) недостаточно изучены в качестве потенциальных средств химиопрофилактики рака (ХПР).

Цель исследования. Сравнительное изучение иммуномодулирующей, антиканцерогенной и антимутагенной активности ПС и КР.

Материалы и методы. ПС из сабельника болотного, тагетаса гибридного и свербиги восточной получены последовательной водно-спиртовой экстракцией и химически охарактеризованы. Препарат бета-каротина (БК) и БК-содержащий препарат «Каскатол» (КСК) разрешены для использования в аптечной сети. Методы оценки иммуномодулирующей, антиканцерогенной и антимутагенной активности описаны нами ранее.

Результаты. Все ПС при систематическом введении мышам BALB/c в течение 2 – 6 недель стимулировали в 2 – 4 раза пролиферативную активность спленоцитов и цитолитическую активность Т-киллеров и перитонеальных макрофагов. БК и КСК были более эффективны, чем ПС, в стимуляции гуморального звена иммунитета. БК и КСК обладали более выраженным антиканцерогенным и антимутагенным эффектом по сравнению с ПС. БК и КСК уменьшали на 30 – 40 % число опухолей печени и ЖКТ, индуцированных химическими канцерогенами, удлиняли латентный период появления опухолей и продолжительность жизни животных. БК и КСК снижали на 30 – 40 % число хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей и крыс, индуцированных у животных цитостатиком или канцерогеном. БК и КСК обладали антиоксидантным и антиоксическим действием, что проявлялось в снижении концентрации малонового диальдегида, повышении активности супероксиддисмутазы и концентрации тиоловых групп в плазме крови и ткани печени.

Выводы. Совместное применение ПС и КР может рассматриваться как перспективное потенциальное средство химиопрофилактики рака (Cancer chemoprevention).

Т.В. Сергеева^{1,2}, Е.В. Жаров^{1,2}, О.П. Богатырев³, А.В. Иванов⁴,

С.В. Зиновьев⁴, О.И. Койфман⁵, А.А. Красновский⁶

ЛОКАЛЬНАЯ ФОТОДИНАМИКА ДЛЯ СНИЖЕНИЯ АГРЕССИИ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА

¹ООО «ЦВМ», Москва

²ЦКБ РАН, Москва

³МОНИКИ, Москва

⁴ФГБНУ «РОНЦ им.Н.Н. Блохина», Москва

⁵ИГХТУ, Иваново

⁶Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва

Цель исследования. Изучение свойств нового фотосенсибилизатора (ФС) бактериохлоринового ряда с поглощением в полосе поглощения эндогенного молекулярного кислорода 762 нм.

Задачи исследования. Оценить эффективность использования локальной фотодинамики и особенности механизма фотодинамического ответа.

Материалы и методы. На моделях первичных культур из клеток рака щитовидной и молочной желез человека в трёхмерной конструкции изучены эффекты воздействия лазерного излучения 762 нм. Результаты оценивались с помощью световой и флуоресцентной микроскопии, иммуноцитохимических методов. Использовали антитела против кератинов, виментина, белков теплового шока, фактора некроза опухоли α , фактора роста эндотелия сосудов, маркера пролиферации Ki-67. Использованы модели животных с лимфомой, опухолью Льюиса, спонтанным раком щитовидной и молочной желез. ФС вводился интратуморально из расчета 5 – 15 мг на 1 г опухолевой ткани, что позволяло повысить его локальную концентрацию более чем в 1000 раз и минимизировать концентрацию ФС в крови. Воздействие лазерным излучением 762 нм проводилось интерстициально непосредственно в опухоли дозами 100 – 200 Дж/г опухоли.

Результаты. Подтверждён несенсибилизированный фотоотклик при облучении в полосе поглощения кислорода. Сильное поглощение в ближнем ИК диапазоне 760 – 762 нм определяет быстрое и эффективное возбуждение ФС с высоким квантовым выходом синглетного кислорода. Изучен фотодинамический эффект с использованием предложенной формы бактериохлорина. Положительный эффект отмечен в различных по морфологии опухолях. Обнаружена закономерность перестройки опухоли – понижение ее злокачественного потенциала, повышение дифференцировки, снижение темпа роста и метастазирования. Уменьшение объёма опухоли происходило за счёт реакции апоптоза, некроза опухоли не отмечали. Результаты проведенных исследований убеждают в целесообразности локальной фотодинамики новым красителем бактериохлоринового ряда как способа адьювантной терапии, универсального для любого морфологического типа опухоли.

*В.Ю. Сергеев***КЛИНИКО-ДЕРМАТОСКОПИЧЕСКИЕ ПАТТЕРНЫ
В ДИАГНОСТИКЕ БАЗАЛЬНОКЛЕТОЧНОГО РАКА КОЖИ***РОО «Общество дерматоскопии и оптической диагностики кожи», Москва*

Базальноклеточный рак кожи (БКР) – ведущее по частоте выявляемости дерматоонкологическое заболевание. На современном этапе актуальны такие вопросы как ранняя доклиническая диагностика, определение длительности наблюдения, периодичности осмотров, разработки программ ранней диагностики рецидивов, а также выявление факторов риска возникновения БКР.

В формировании групп повышенного онкологического риска в настоящее время принципиально важным является внедрение методов видеодерматоскопии, позволяющей проводить раннюю доклиническую диагностику эпителиальных опухолей. В настоящее время для диагностики базально-клеточного рака внедрена отечественная система РДС-1 с поляризованным и ультрафиолетовыми осветительными блоками. Метод дерматоскопии достаточно широко внедрен онкологами и дерматологами для диагностики пигментных образований.

Видеодерматоскопия значительно расширяет возможности диагностики, лечения, а главное профилактики заболеваний кожи, особенно опухолевых образований, что делает необходимым ее широкое внедрение в повседневную практическую деятельность врачей-дерматологов. Среди основных видеодерматоскопических критериев БКР, следует указать на наличие признаков ангиогенеза и мелких узелков («жемчужных папул»), выявляющихся при 80 кратном увеличении, невидимых невооруженным глазом. Кроме того, мы впервые обнаружили несколько клинико-цитологических симптомов, характерных для БКР. Они заключаются в следующем: при соскобе материала и нанесении его на предметное стекло четко выявляются специфические включения, которые мы назвали симптомом «манной крупы». При последующем осмотре этого соскоба видеоскопом среди бесформенной массы эритроцитов четко выявляются округлые, иногда слегка вытянутые неправильных очертаний полупрозрачные зерна, окруженные ободком розоватого цвета, образованным скоплением эритроцитов. Некоторые из них имели сотовую структуру. Последний признак выявлялся при кистозных разновидностях БКР. Проведенные цитологические исследования данных мазков во всех случаях подтвердили диагноз базалиомы. Таким образом, новый метод видеодерматоскопического изучения цитологического мазка позволяет, помимо клинических характеристик, дополнительно, непосредственно на приеме подтверждать диагноз базалиомы, фиксировать данные в памяти компьютера и, при необходимости, пересылать его цитологам для дополнительного изучения и сравнения с классическим цитологическим методом.

Внедрение метода видеодерматоскопии при осмотре кожи и цитологических мазков при подозрении на БКР совершенствуют раннюю диагностику и мероприятия первичной и вторичной профилактики рака кожи.

*Ю.Ю. Сергеев, В.Ю. Сергеев***СОВЕРШЕНСТВУЯ ДИАГНОСТИКУ МЕЛАНОМЫ:
ТЕЛЕДЕРМАТОСКОПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СПЛОШНОЙ СЕРИИ НОВООБРАЗОВАНИЙ КОЖИ***РОО Дерматоскопии и оптической диагностики кожи, Москва*

Наряду с изучением иммунопатогенеза и поиском новых возможностей биотерапии опухолей кожи, значительный прогресс в борьбе с меланомой достигнут в области ранней диагностики с использованием сканирующих устройств и дерматоскопии. Цифровая дерматоскопия получает все большее распространение в последнее время в связи с развитием медицинской техники и появлением различных устройств, облегчающих соединение ручных дерматоскопов с различными фотоаппаратами [3, 4]. Возможность фиксации дерматоскопического изображения позволяет врачу не только проводить динамическое наблюдение за образованиями, но и использовать преимущества телемедицины: получать мнение эксперта в короткие сроки без временных и экономических затрат для пациента. С целью определения возможности постановки диагноза или выбора тактики ведения пациента только по дерматоскопической картине нами были отобраны в случайном порядке 100 изображений, полученных при помощи дерматоскопа РДС-1 и загруженных на удаленный сервер автоматизированной диагностики меланоцитарных образований в сплошном порядке в течение 2014-2015 гг. Для включения изображения в исследование предъявлялось два условия: 1) образование по диаметру не превышает поле зрения дерматоскопа; 2) не нарушена методика проведения дерматоскопического осмотра. Отобранные изображения анализировались при помощи двухшагового алгоритма, меланоцитарные образования обрабатывались 7-балльным алгоритмом Argenziano. Из 100 образований 69 имели меланоцитарную природу, 30 образований немеланоцитарную, дерматоскопическая картина 1 образования была неспецифической. Из 69 меланоцитарных образований 51 (73,9%) набрали по 7-балльной шкале алгоритма 0 баллов, 16 (23,2%) набрали от 1 до 3 баллов, 2 (2,9%) образования имели предположительно акральную локализацию и не были обработаны. Среди немеланоцитарных образований 25 (83,4%) были диагностированы как себорейный кератоз, 4 (13,3%) образования имели сосудистое происхождение (ангиокератомы, гемангиома), 1 образование было представлено открытым комедоном. Исходя из полученных данных, гистологическое исследование для уточнения диагноза, в связи с наличием вероятных дерматоскопических признаков меланомы, можно рекомендовать в 17 случаях из 100. Большинство новообразований кожи имеют характерную дерматоскопическую картину, что позволяет ставить диагноз и выбирать тактику ведения пациента по фотографии. В небольшой части случаев может потребоваться дополнительная информация о пациенте: анамнез, возраст, фототип кожи по Фитцпатрику, клиническая картина исследуемого образования и др. Обязательными условиями удаленной оценки является хорошее качество дерматоскопического изображения, отсутствие артефактов (дефекты нанесения иммерсионной среды, нитки, волосы) в поле осмотра и правильный выбор образования для представления на телеконсультацию. Удаленная оценка дерматоскопических изображений – перспективное направление развития дерматоскопии в России, требующее дальнейшего изучения и развития.

В.Б. Сирота, Н.А. Кабилдина, И.М. Омарова, М.Д. Жумакаев, Д.Д. Дороган, Е.А. Досманова

ПАТОМОРФОЗ ОПУХОЛИ ПРИ ХИМИОТЕРАПИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ*КГМУ, КГП «ООД», Караганда, Казахстан*

Цель исследования. Провести оценку лекарственного патоморфоза опухоли при химиотерапии рака молочной железы.

Материалы и методы. В исследование включены 76 больных раком молочной железы ($T_2N_{1-2}M_0$, $T_3N_{0-2}M_0$) в возрасте от 28 до 75 лет. В контрольной группе 30 больным проводили 4 курса неoadъювантной ХТ по схеме АС (доксорубицин 50 мг/м², циклофосфан 500 мг/м²), исследуемая группа 1 (26 человек) получала режим ХТ АС в сочетании с арглабином (арглабин 370 мг/м² № 7 дней), исследуемая группа 2 (20 больных) – монотерапию арглабином. Использована классификация лучевого патоморфоза рака по Г.А. Лавниковой (1979).

Результаты. Частичный ответ опухоли в исследуемой группе 1 – 61,5±9,5 %, в исследуемой группе 2 – 30,0±10,2 % ($p \leq 0,05$). Не было статистической разницы в патоморфозе опухоли 3 – 4 степени у больных всех трех групп. Патоморфоз опухоли 3 – 4 степени в контрольной группе составил 33,3±8,6 %, в исследуемой группе 1 – 34,6±9,3 %, в исследуемой группе 2 – 20,0±8,9 %. Не было достоверной зависимости патоморфоза опухоли от иммуногистохимического фенотипа рака и величины опухолевого узла.

Выводы. Необходимо продолжить дальнейшее исследование лекарственного патоморфоза у пациентов, получающих арглабин.

*Л.Ю. Складов, И.В. Назимов, М.С. Вагида, А.Т. Градюшко***БИООРГАНИЧЕСКИЕ ДЕНДРИМЕРЫ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПРЕПАРАТЫ***ФГУН ИБХ им академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва**ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва*

Присоединение природного порфирина – хлорина к мультиплетному пептиду, содержащему последовательность RGDS и фолиевую кислоту, позволило сохранить спектральные характеристики хромофора и тропность пептида контактного взаимодействия к рецепторам. Реакционноспособные группы в модифицированных пептидах и боковые функциональные группы в порфиринах служат источником связей для образования из них порфиринов и дендримеров. При синтезе порфираза меди в масс-спектрах, помимо ожидаемого продукта ($MM - 692^+$), наблюдался пик $MM - 529^+$, соответствующий порфрину меди. Широкий спектр флуоресценции мультиплетных производных порфираза цинка (400 – 900 нм) позволил наблюдать связывание этих соединений с клеточными линиями методом проточной цито флуориметрии с различными источниками возбуждения. Необычным свойством получаемых дендримеров является способность образовывать суспензию нано частиц с очень узким распределением по размерам. Наличие реакционных групп позволяет осуществлять присоединение разных лигандов вплоть до моноклональных антител, что в сочетании с синтезом библиотек, возможно, позволит таргетировать злокачественные новообразования персонализировано. Маркировка фрагментов пептидной цепи может быть проведена реакцией диазотирования. Комплексообразование с внешними группами порфиразинов и их дендримеров может приводить к наночастицам с большим содержанием металла, по всей видимости перспективным и для термотерапии учитывая поглощение ближнего ИК- излучения и сорбцию на тканях этих соединений.

*Е.Г. Славина, А.И. Чертова, Л.Г. Жукова, И.П. Ганьшина, М.А. Окружнова, Э.К. Шоуа, В.А. Нуртдинова, А.А. Борунова, З.Г. Кадагидзе***РАЗЛИЧИЯ В ПОПУЛЯЦИОННОМ СОСТАВЕ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С HER-2-ПОЗИТИВНЫМ И ТРИЖДЫ НЕГАТИВНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ***ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва*

Актуальность. Рак молочной железы (РМЖ) является наиболее частым вариантом злокачественных опухолей у женщин во всем мире. Для РМЖ характерна клиническая и молекулярная гетерогенность. У 20 – 30 % больных определяется гиперэкспрессия рецептора эпидермального фактора роста 2 ($HER2^+$ РМЖ), а в 10 – 20 % случаев диагностируется трижды-негативный РМЖ (Т-Н РМЖ), который характеризуется отсутствием рецепторов к эстрогену и прогестерону, а также отсутствием гиперэкспрессии $HER2$.

Цель исследования. В настоящей работе у больных $HER2^+$ РМЖ и Т-Н РМЖ определяли связь между исходным количеством основных субпопуляций лимфоцитов периферической крови (ПК) и результатами проведенной терапии.

Материалы и методы. В исследование были включены пациентки с $HER2$ -положительным ($n=24$) и Трижды-негативным ($n=31$) РМЖ с местно-распространенными, первично-неоперабельными формами, с изолированными метастазами в л/у и висцеральными органами. Контролем служили здоровые женщины ($n=28$). Иммунологическое обследование больных проводилось до начала лечения. Оно заключалось в иммунофенотипировании лимфоцитов (ПК) и определении цитотоксической (ЦТ) активности NK-клеток.

Результаты и выводы. У больных $HER2^+$ РМЖ с высокой степенью лечебного патоморфоза опухоли до лечения выявляется повышение количества регуляторных $CD4^+CD25^+FOXP3^+$ Т-клеток по сравнению с пациентками с низкой степенью патоморфоза и с контролем. У больных $HER2^+$ РМЖ и Т-Н РМЖ с высокой степенью лечебного патоморфоза опухоли до лечения определяется уменьшение величины соотношения $CD8^+CD28^+/CD8^+CD28^-$ Т-клеток. Для больных Т-Н РМЖ с высокой степенью патоморфоза характерно повышение цитотоксической активности естественных киллеров до лечения по сравнению с больными с низкой степенью патоморфоза и со здоровыми женщинами.

Г.Б. Смирнова, Ю.А. Борисова, М.С. Калишьян, Е.М. Трещалина, Н.А. Оборотова, М.А. Барышникова

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ НОВОГО НИТРОЗОПРОИЗВОДНОГО ОРМУСТИНА С МЮСТОФОРАНОМ НА ПОДКОЖНЫХ КСЕНОГРАФТАХ МЕЛАНОМЫ ЧЕЛОВЕКА MEL7*ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина», Москва, Россия*

Актуальность. Новый препарат ормустин из группы нитрозопроизводных алкилирующих цитостатиков с карбамилирующим действием проходит доклиническое изучение на опухолях человека в качестве нового противоопухолевого средства в сравнении с клиническим прототипом мюстофораном, эффективным при лечении диссеминированной меланомы.

Цель исследования. Оценить сравнительную эффективность ормустина и мюстофорана на подкожных ксенографтах меланомы человека под контролем переносимости.

Материалы и методы. Использованы подкожные ксенографты перевиваемой беспигментной меланомы Mel7 (Bro) на мышах-самках Balb/c nude (n=27), чувствительной к нитрозопроизводным (по данным РОНЦ). В опыте 4 группы. Препараты вводили мышам в/в (n=9), лиофилизат ормустина (лаб. хим.фарм анализа) – в 5% глюкозе на 9 сутки после трансплантации опухоли в однократных дозах 110 или 125 мг/кг. Мюстофоран («les Lab. Servier» Франция) в разовой дозе 25 мг/кг вводили мышам в оригинальном растворителе на 9 и 13 сутки. Контроль роста опухоли выполнен в динамике, мыши (n=6) получали растворители в адекватной схеме. Эффективность оценена по стандартному показателю в сравнении с контролем ($T/C_{max} \leq 42\%$). Достоверность полученных данных рассчитана с помощью компьютерной программы Excel для Windows 2010.

Результаты. Ормустин в обеих примененных дозах показал достоверный противоопухолевый эффект на уровне $T/C=42-43\%$ ($p<0,05$) на 15 сутки после лечения. Мюстофоран был достоверно эффективен на 10 сутки на уровне $T/C=41\%$ ($p<0,05$) после 2-кратного курса. Достоверных различий между группами нет. Переносимость лечения обоими препаратами была удовлетворительной.

Заключение. Полученные данные позволяют считать ормустин и мюстофоран равноэффективными на подкожных ксенографтах меланомы человека Mel7 по уровню достоверного противоопухолевого эффекта и переносимости лечения.

З.С. Смирнова¹, Л.М. Борисова¹, М.П. Киселева¹, А.В. Ланцова¹, Е.В. Санарова¹, Н.А. Оборотова¹, В.Я. Чалей¹, В.В. Мусияк², Т.В. Матвеева², Г.Л. Левит², В.П. Краснов², М.А. Барышников¹, А.Ю. Барышников¹

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ОРМУСТИНА, НОВОГО ПРЕПАРАТА КЛАССА АЛКИЛНИТРОЗОМОЧЕВИН, В ОТНОШЕНИИ ПЕРЕВИВАЕМЫХ ОПУХОЛЕЙ МЫШЕЙ*¹ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва**²Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, Екатеринбург*

Актуальность. ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» и Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН проводят совместные исследования нового отечественного противоопухолевого препарата ормустин из класса алкилнитрозомочевин (АНМ). АНМ широко используются в клинической практике, они обладают высокой противоопухолевой активностью и широким спектром противоопухолевого действия, особенно в комбинациях с другими противоопухолевыми средствами.

Цель исследования. Изучить противоопухолевую активность ормустина на перевиваемых опухолях мышей.

Материалы и методы. Исследование проведено на иммунокомпетентных мышах-самках и мышах-самцах линий C57Bl/6j, DBA/2 и CBA и гибридах первого поколения BDF₁ (C₅₇Bl/6j×DBA/2) массой тела 18-22 г. Для оценки противоопухолевой активности использовали следующие перевиваемые опухоли: лимфоцитарная лейкемия Р-388, лимфоидная лейкемия L-1210, эпидермоидная карцинома легкого Льюис (LLC), рак шейки матки РШМ-5, меланома В-16. Была определена терапевтическая доза ормустина, которая составляет 125 мг/кг. Оценку противоопухолевой эффективности ормустина на разных моделях опухолей проводили при однократном внутривенном введении в терапевтической дозе. Для оценки противоопухолевого эффекта использовали следующие критерии: торможение роста опухоли (ТРО, %), увеличение продолжительности жизни (УПЖ, %) экспериментальных мышей по сравнению с контрольными животными и излечение (%).

Результаты. Проведенные исследования ормустина, нитрозоуреидопроизводного диаминокарбоновой кислоты L-орнитина, выявили высокую противоопухолевую активность препарата. Установлено, что ормустин в терапевтической дозе 125 мг/кг при однократном внутривенном введении вызывает излечение мышей с лейкозами в большом проценте случаев. На Р-388 Ормустин вызывает излечение мышей в 50 % случаев, а УПЖ оставшихся животных составляет 174 %. На L-1210 Ормустин вызывает излечение мышей в 66,7 % случаев, а УПЖ оставшихся животных составляет 346 %. На РШМ-5 препарат в дозе 125 мг/кг при однократном внутривенном введении вызывает излечение всех мышей в опытной группе. Ормустин также оказывает высокий терапевтический эффект на меланоме В-16 и LLC. ТРО на меланоме В-16 составляет от 99,3 % до 91 % в течение 15 дней (УПЖ 84 %), а на LLC от 99,9 % до 87 % в течение 14 дней (УПЖ 84 %).

Заключение. Полученные результаты дают основание продолжить исследования ормустина по изучению его перекрестной устойчивости с другими препаратами из класса АНМ, а также при комбинированной терапии опухолей с целью повышения эффективности лечения онкологических больных.

З.С. Смирнова¹, Л.М. Борисова¹, М.П. Киселева¹, А.А. Осипова^{1,2}, В.Н. Осипов^{1,2}, А.В. Колотаев², Д.С. Хачатрян²

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ НОВОГО СОЕДИНЕНИЯ ИЗ КЛАССА ПРОИЗВОДНЫХ ИМИДАЗОЛА D04607¹ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва²ФГУП «ИРЕА», Москва

Цель исследования. Оценка противоопухолевой активности нового соединения из класса производных имидазола D04607 на перевиваемых опухолях мышей.

Материалы и методы. Исследование проведено на иммунокомпетентных самках и самцах мышей линий C57Bl/6j и DBA/2 (доноры опухолевого материала) и гибридах первого поколения BDF₁ (C₅₇Bl/6j x DBA/2) массой тела 20 – 25 г. Мышей делили на группы по 10 – 12 особей в контрольной группе, по 3 – 5 мышей в группах с асцитной опухолью – лимфоцитарной лейкемией P-388 и по 8 особей в группах с солидными опухолями – меланомой B-16 и эпидермоидной карциномой легкого Льюис (LLC). Опухоли перевивали лабораторным животным по стандартной методике. Соединение D04607 растворяли в дистиллированной воде и вводили внутривентриально в диапазоне доз от 0,1 мг/кг до 100 мг/кг ежедневно в течение 5 дней. Критериями оценки противоопухолевой активности служили: торможение роста опухоли (ТРО, %) и увеличение продолжительности жизни подопытных мышей по сравнению с контрольными животными (УПЖ, %). Минимальными критериями эффективности соединений служат: ТРО ≥ 50% и УПЖ ≥ 25%.

Результаты. В результате проведенных исследований показано, что на P-388 соединение D04607 уже в дозе 10 мг/кг при ежедневном внутривентриальном введении в течение 5 дней вызывало гибель 2 мышей из 3 животных в группе, а остальные дозы: 25 мг/кг, 50 мг/кг, 75 мг и 100 мг/кг были летальными. При этом соединение D04607 вызывало УПЖ равное 14%, 9% и 14% в дозах 7 мг/кг, 5 мг/кг и 3 мг/кг соответственно. Однако это значение УПЖ ниже минимального критерия эффективности соединения. На меланоме B-16 соединение D04607 проявляло слабый, но статистически значимый противоопухолевый эффект только в дозе 5 мг/кг в течение 4 дней: ТРО = 55 – 56 %, которое соответствует минимальному критерию эффективности для новых веществ. На LLC соединение D04607 в дозе 3 мг/кг тормозило рост этой опухоли на 72 % непосредственно после окончания лечения мышей.

Заключение. Результаты по противоопухолевой активности соединения D04607 позволяют продолжить исследование вещества на других моделях опухолей и/или при других режимах введения, а также при комбинированной терапии опухолей с целью повышения эффективности лечения онкологических больных.

*А.В. Соколовский, В.А. Соколовский***АСЕПТИЧЕСКАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ МЕГАПРОТЕЗА КОЛЕННОГО СУСТАВА ПРИ РЕЗЕКЦИИ БЕДРЕННОЙ И БОЛЬШЕБЕРОЦОВОЙ КОСТИ: АНАЛИЗ ОТДАЛЁННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛЕЧЕНИЯ.***ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва*

Актуальность. Несмотря на значительное увеличение срока службы эндопротезов коленного сустава, в настоящее время, актуальность проблемы асептической нестабильности после онкологической резекции этой области не снижается.

Цель исследования. Выявить основные причины асептической нестабильности имплантатов, частоту и вероятность повторных операций.

Материалы и методы. С 1992 по 2014 г. 538 пациентам было выполнено 357 первичных и ревизионных операций области коленного сустава, что составило 58 % от общего количества произведённых операций. За период 22 лет было выполнено 66 ревизионных операций причиной, которых стала асептическая нестабильность. После резекции дистального отдела бедренной кости было выполнено 40 и после резекции проксимального отдела большеберцовой кости 26 ревизионных операций. Повторные операции после резекции дистального отдела бедренной кости были выполнены 9 пациентам и после резекции проксимального отдела 6. Одному пациенту выполнено 5 повторных ревизий. Средний период наблюдений составил 61,5 месяца (медиана 47,7; от 0,1 до 252,1 месяцев).

Результаты. Срок службы эндопротеза коленного сустава после резекции бедренной кости в течение 5 и 10 лет составил 70,3 % и 53,9 %, после резекции большеберцовой кости 55,8 % и 26,8 %. Частота асептической нестабильности составила 14,6 %. Основным осложнением асептической нестабильности стала поломка ножки эндопротеза. Сроки возникновения асептической нестабильности в нашем исследовании варьировали от 0,47 до 124,7 месяцев и среднем составили 26,5 месяцев (медиана 15,7 месяцев). В нашем исследовании вероятность первого реэндопротезирования составила 10,4 %, второго 23 %, третьего 38,5 %, четвёртого 40 %. Частота реэндопротезирования после ревизионных операций в 2,4 раза выше, чем после первичного эндопротезирования.

Заключение. Правильный выбор дизайна ножки эндопротеза и способа фиксации при первичном и ревизионном эндопротезировании позволяет продлить срок службы эндопротеза, сократить количество повторных операций.

В.А. Соколовский, А.В. Соколовский

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДИАФИЗАРНЫХ ЭНДОПРОТЕЗОВ ПРИ ПОРАЖЕНИИ КОСТИ ПЕРВИЧНЫМИ И МЕТАСТАТИЧЕСКИМИ ОПУХОЛЯМИ*ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва*

Актуальность. Индивидуализация реконструктивного хирургического лечения опухолей опорно-двигательного аппарата является сложной задачей, требующей максимально возможного топографо-анатомического выполнения оперативного лечения. Проведение тщательного анализа наиболее часто встречающихся осложнений при реконструкции бедренной и плечевой кости диафизарным эндопротезом, при первичном и метастатическом опухолевом поражении.

Материалы и методы. В течение 16 лет, с 1998 по 2014 год, 12 пациентам выполнена резекция диафиза бедренной и плечевой кости с последующим эндопротезированием. Резекция бедренной кости выполнена 8 пациентам, резекция плечевой кости 4. Среди пролеченных пациентов 4 пациента были с первичными саркомами кости, 7 с метастатическим поражением кости, 1 с множественной миеломой. Средний период наблюдения после операции составил 66,8 мес. (от 1 до 202). Реконструкция диафизарного дефекта выполнялась двумя типами эндопротезов: I тип – металлический сплав ножки эндопротеза с цементной фиксацией; II тип – цементный эндопротез, изготовленный из материала изоэластик (isoelastic RM) с дополнительной блокировкой ножек эндопротеза винтами.

Результаты. Общая выживаемость составила 92 %. В течение срока наблюдения в 66,7 % выявлено отсутствие любых механических и немеханических осложнений. В 16,7 % (2 пациента) выявлена асептическая нестабильность ножек эндопротеза: у 1 одного пациента с эндопротезом выполненным из сплава металла и у 1 пациента с эндопротезом изготовленным из материала изоэластик. У одного пациента с металлическим эндопротезом выявлена асептическая нестабильность и перелом ножки эндопротеза. Рецидив заболевания выявлен у 1 пациента (8,3 %). Все осложнения выявлены в группе пациентов после эндопротезирования бедренной кости. В течение всего периода наблюдений ни у одного пациента не выявлена перипротезная инфекция.

Заключение. Асептическая нестабильность и поломка ножки эндопротеза наиболее частые осложнение эндопротезирования диафиза бедренной и плечевой кости. Использование диафизарных эндопротезов не снижает онкологических результатов лечения при сохранении удовлетворительной функции конечности при условии четкого соблюдения показаний к эндопротезированию в онкоортопедии. Использование блокировочного винта ножки эндопротеза позволяет избежать развития асептической нестабильности эндопротеза.

*С.О. Соломевич, П.М. Бычковский, Т.Л. Юркитович, Н.В. Голуб, В.А. Алиновская, Р.И. Костерова***ИММОБИЛИЗАЦИЯ ЦИСПЛАТИНА И ОКСАЛИПЛАТИНА НА ГИДРОГЕЛЯХ МОДИФИЦИРОВАННОГО ДЕКСТРАНА***НИИ ФХП БГУ, Минск, Республика Беларусь*

Цель работы. Создание пролонгированных биodeградируемых полимер-лекарственных форм цисплатина и оксалиплатина путем их иммобилизации на гелеобразующем декстране с фосфорнокислыми и карбаматными группами (ФКД).

Материалы и методы. В качестве полимеров-носителей противоопухолевых веществ получены образцы ФКД с содержанием фосфорнокислых групп 1,7 – 3,7 ммоль /г, степенью набухания 10 – 222 г/г.

Результаты и выводы. Исследована сорбция цисплатина и оксалиплатина на микрочастицах ФКД. Иммобилизация цитостатиков на гидрогелях ФКД в основном протекает по механизму физической адсорбции, незначительная часть связывается по механизму ионного обмена. Установлено, что релиз цитостатиков протекает в две стадии, около 30 – 40 % цитостатиков высвобождается из фазы носителя в течение 1 часа, 50 – 60 % – в течение 6 часов, дальнейшее высвобождение протекает в ходе биodeградации полимера. В эксперименте *in vitro* показано, что полученные полимер-лекарственные формы цисплатина обладают сравнимой или превышающей цитостатической активностью по отношению к нативному цисплатину.

Е.Ф. Странадко

КЛИНИЧЕСКАЯ И СОЦИАЛЬНО-ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ*ФГБУ «ГНЦ лазерной медицины ФМБА России», Москва*

Актуальность. Фотодинамическая терапия (ФДТ) – это эффективный, безоперационный, органосохраняющий, щадящий и безопасный метод лечения рака различных наружных и висцеральных локализаций, а также целого ряда неопухолевых заболеваний. Метод ФДТ за счет однократности лечебной процедуры, проводимой при большинстве локализаций рака в амбулаторных условиях, позволяет значительно сократить сроки лечения по сравнению с наиболее распространенными хирургическим, лучевым и лекарственным методами терапии рака, уменьшить количество осложнений, восстановить трудоспособность в соответствующих возрастных группах или сократить сроки нетрудоспособности больных. В 2002 г. ФДТ впервые включена в «стандарты лечения» злокачественных опухолей, а с 2013 г. ФДТ официально признана в качестве одного из возможных альтернативных методов лечения большинства локализаций злокачественных новообразований.

Цели исследования. Оценить социально-экономическую эффективность ФДТ злокачественных опухолей по сравнению с традиционными методами лечения рака.

Материалы и методы. Оценка проведена на основании собственного опыта и данных отечественной и зарубежной литературы.

Результаты и выводы. ФДТ при раке головы и шеи в 3 раза дешевле хирургического лечения и почти в 2 раза дешевле паллиативной химиотерапии. ФДТ обеспечивает в среднем на 129 дней больше сохраненных жизней больных с распространенным опухолевым процессом по сравнению с интенсивным хирургическим лечением и на 48 дней больше сохраненных жизней по сравнению с химиотерапией. При сравнительной оценке эффективности паллиативной эндоскопической ФДТ и ИАГ-неодимовой лазерной реканализации при распространенном обтурирующем просвете раке пищевода отмечено, что оба метода обеспечивают улучшение состояния больных с регистрацией объективного эффекта воздействия на опухоль, но значительно более продолжительный эффект действия ФДТ и, соответственно, меньшие затраты при необходимости применения повторных паллиативных курсов лечения. При раке кожи средняя стоимость ФДТ (использована калькуляция стоимости медицинских услуг на 01.01.2013 г.) почти в 2 раза ниже средней стоимости лазерной фотодеструкции (31617 руб. против 62590 руб.) и в 3,2 раза ниже стоимости хирургического лечения с пребыванием в стационаре (102410 руб.). Эта разница в стоимости лечения обусловлена, прежде всего, характером однократной процедуры ФДТ, выполняемой у большинства больных в амбулаторных условиях, с одной стороны, и необходимостью пребывания в стационаре при хирургическом лечении, а также стоимостью самой хирургической операции, с другой. ФДТ с каждым днем все шире внедряется в повседневную клиническую практику. Этому способствуют ее преимущества перед традиционными методами лечения рака. Окончательным доводом в пользу ФДТ является экономическая эффективность ее применения.

*Н.М. Сураева, О.О. Рябая, Ю.А. Хоченкова, Л.Ф. Морозова, А.Ю. Барышников***ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО ПЕРЕХОДА В КЛЕТКАХ МЕЛАНОМНОЙ ЛИНИИ В РЕЗУЛЬТАТЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭМБРИОНАЛЬНОГО ЭКСТРАКТА***ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва*

Актуальность. Эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) представляет собой многостадийный процесс, связанный с изменениями в морфологии клеток и регуляции их генов. ЭМП встречается в злокачественных опухолях различной локализации, играя центральную роль в метастазировании и повышении их инвазивности. Наиболее характерным признаком ЭМП является потеря опухолевыми клетками маркеров экспрессии гена Е-кадгерина и увеличение экспрессии гена виментина.

Задача исследования. Оценить клетки ранее полученного нами субклона из меланомной линии человека Mel Ibr, который обладал признаками стволовых клеток, на наличие характеристик ЭМП.

Материалы и методы. Клетки субклона культивировали в среде RPMI-1640 с добавками и 5% эмбриональной телячьей сывороткой в течение 2 – 3 пассажей до исследования на экспрессию маркеров ЭМП. Е-кадгерин и виментин определяли по уровню мРНК с помощью ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Наличие белков Е-кадгерина и виментина анализировали с помощью иммуноцитохимического окрашивания.

Результаты. Величина базальной экспрессии мРНК белков виментина и Е-кадгерина клеток родительской линии составила 1,77 о.е. и 2,02 о.е. соответственно. Клетки субклона имели практически идентичный уровень мРНК виментина (1,61 о.е.), при значительно меньшей экспрессии Е-кадгерина (0,56 о.е.). Иммуноцитохимические исследования показали наличие белка Е-кадгерина только в клетках родительской линии (около 30 %), тогда как белок виментин присутствовал в обоих типах клеток, но в клетках субклона его было на 30 % больше, и они имели более интенсивное окрашивание.

Выводы. Анализ уровней экспрессии генов Е-кадгерина и виментина выявил активацию процессов ЭМП в субклоне из меланомной линии человека Mel Ibr по сравнению с родительской линией.

А.В. Таллерова, О.С. Кузнецова, Д.А. Шацкий, С.В. Никитин, Л.П. Коваленко

ЭФФЕКТЫ СНК-411 НА ДЕПРЕССИВНО-ПОДОБНОЕ ПОВЕДЕНИЕ У МЫШЕЙ С LLC

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Цель исследования. Оценка влияния нового противоопухолевого соединения СНК-411 (2-изобутил-4,6-диметил-5-оксипиримидин), ранее показавшего в экспериментах ингибирование роста опухоли и выраженное снижение продукции IL-2, IL-4 и IL-6 в модели LLC у мышей C57Bl/6.

Материалы и методы. Взвесь опухолевых клеток LLC имплантировали мышам согласно общепринятой методике. СНК-411 в дозах 25 и 50 мг/кг вводили через 48 часов после инокуляции опухоли в течение 7 дней. Оценку спонтанной двигательной активности животных проводили на 9 сутки развития LLC на инфракрасном актиметре. Статистическую обработку данных проводили по непарному t-критерию Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. На 9 сутки развития опухоли у животных с LLC выявлено снижение стереотипических движений в 2,8 раза, максимальной скорости движения в 2,7 раза и пройденного расстояния в 3,1 раза по сравнению с интактными мышами. У мышей-опухоленосителей, получавших СНК-411 в дозах 25 и 50 мг/кг, регистрировали стимуляцию локомоторной активности в 1,3 и 1,2 раза по сравнению с интактными животными, восстановление максимальной скорости движения на 49 % (25 мг/кг), пройденного расстояния в 2,3 и 1,8 раза по сравнению с контрольными LLC-мышами и стереотипических параметров до значений интактных животных.

Выводы. Полученные результаты подтверждают развитие депрессивно-подобного поведения при онкогенезе и возможность коррекции психоэмоционального состояния новым противоопухолевым соединением СНК-411.

П.А. Тараканов¹, М.Е. Неганова¹, Е.Н. Тараканова¹, Д.В. Мищенко²

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ НОВЫХ ПОРФИРАЗИНОВ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНО АКТИВНЫХ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

¹ИФВ РАН, Черноголовка

²ИПХФ РАН, Черноголовка

Актуальность. Благодаря своим уникальным физико-химическим свойствам тетрапиррольные макроциклы активно используются для создания на их основе фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии (ФДТ) рака. Синтез тетрапиррольных макроциклов, содержащих в своем составе 1,4-дiazепиновые гетероциклы, является одним из перспективных направлений создания фотосенсибилизаторов третьего поколения.

Цель работы. Разработка методов синтеза и экспериментально-теоретическое изучение связи структура – свойство полученных фотосенсибилизаторов на основе новых порфиразинов, обладающих светопоглощением в ближней ИК области.

Материалы и методы. Полученные соединения охарактеризованы ЭСП, ИК, ЯМР и флуоресцентной спектроскопией, а также MALDI-TOF масс-спектрометрией.

Результаты и выводы. Введение различных заместителей в 1,4-дiazепиновый гетероцикл приводит к значительному изменению физико-химических свойств этих соединений. Последнее является фундаментальной проблемой для данного класса макрогетероциклов, изучение которой открывает возможность понимания механизмов, лежащих в основе управления их фотоактивностью для решения как терапевтических, так и диагностических задач.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (14-03-32031).

Л.Р. Тилова¹, О.И. Задорожная¹, А.В. Савинкова¹, К.И. Курсанов¹, А.М. Оглоблина¹, М.Г. Якубовская¹, И.В. Будунова², Г.А. Белицкий¹, Е.А. Лесовая¹

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К КОМБИНИРОВАННОЙ ХИМИОТЕРАПИИ ГЕМОБЛАСТОЗОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛИГАНДОВ ГЛЮКОКОРТИКОИДНОГО РЕЦЕПТОРА

¹ФГБНУ "РОНЦ им. Н.Н. Блохина", Москва

²Northwestern University, Chicago, USA

Актуальность. Использование селективных агонистов глюкокортикоидного рецептора (SEGRA) в химиотерапии гемобластозов является перспективным направлением исследований. SEGRA активируют рецептор только по механизму транс-репрессии, что обуславливает сниженные побочные эффекты. Ранее нами был продемонстрирован синергический противоопухолевый эффект ингибитора протеасом бортезомиба и соединения класса SEGRA, CpдA.

Цель работы. Изучение комбинированного действия лигандов GR и ингибиторов белка REDD1, убиквитин-протеасомной системы, и узкобороздочных лигандов на клетки лейкозов и лимфом.

Материалы и методы. Цитотоксический эффект определяли путем подсчета клеток; транс-репрессию и транс-активацию оценивали путем люциферазного анализа и ПЦР; уровень экспрессии GR, p-GR, REDD1, p-S6 и S6 определяли Вестерн-блоттингом

Результаты и выводы. Показан синергизм цитотоксического действия CpдA и рапамицина. Продemonстрировано, что дексаметазон в комбинации с рапамицином проявляет свойства SEGRA, селективно запуская транс-репрессию. Данная комбинация крайне перспективна для применения в терапии гемобластозов, так как рапамицин и дексаметазон являются хорошо изученными препаратами.

С.Е. Титов^{1,2}, М.К. Иванов², О.А. Климова^{1,2}, Е.В. Карпинская³, Е.В. Цивликова², С.П. Шевченко³, Т.Л. Полоз⁴,

П.С. Деменков⁵, И.Ф. Жимулев¹, Н.Н. Колесников¹

МОЛЕКУЛЯРНОЕ ТИПИРОВАНИЕ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ОПЕРАЦИОННОМ МАТЕРИАЛЕ ОТ ПАЦИЕНТОВ ИЗ НОВОСИБИРСКА:

АНАЛИЗ НАЛИЧИЯ МУТАЦИИ BRAF V600E, ТРАНСЛОКАЦИИ RET-PTC1 И МИКРОРНК-ПРОФИЛИРОВАНИЕ

¹ИМКБ СО РАН, Новосибирск

²ЗАО "Вектор-Бест", Кольцово

³МБУЗ г. Новосибирска ГКБ №1, Новосибирск

⁴НУЗ «ДКБ на ст. Новосибирск-Главный ОАО «РЖД», Новосибирск

⁵ИЦИГ СО РАН, Новосибирск

Задача работы. Разработка алгоритма молекулярно-генетического постоперационного типирования опухолей ЩЖ, дополняющего и уточняющего гистологический анализ.

Материалы и методы. В работе использовали выборку образцов опухолевой ткани ЩЖ, хирургически удаленных у 208 пациентов (контроль – прилегающая условно нормальная ткань). Согласно первичному гистологическому заключению, выборка включала 128 злокачественных и 80 доброкачественных новообразований разных типов. В каждой пробе определяли содержание 13 микроРНК, а также наличие транслокации RET-PTC1 и мутации BRAF V600E.

Результаты и выводы. На основании анализа результатов был разработан алгоритм типирования, позволяющий уточнить спорные результаты гистологического заключения, служившего референсным методом. Для 21 пациента результаты молекулярного типирования противоречили первичному гистологическому заключению. В 19 из них последнее указывало на доброкачественное новообразование, несмотря на наличие молекулярных маркеров, соответствующих раку. Повторное заключение, выполненное более опытным патологом, в 11 из этих случаев совпало с молекулярным типированием и выявило рак. В двух образцах из оставшихся, дважды гистологически классифицированных как «доброкачественные», была выявлена мутация BRAF V600E, характерная для рака. Полученные результаты показывают практическую возможность использования микроРНК и соматических онкогенных мутаций в качестве вспомогательных молекулярных маркеров, позволяющих повысить точность постоперационного типирования опухолей ЩЖ.

Ю.А. Титова, О.В. Федорова, А.Ю. Вигоров, Д.А. Груздев, В.П. Краснов, Г.Л. Русинов, В.Н. Чарушин

НОВЫЙ ПОДХОД К АСИММЕТРИЧЕСКОМУ СИНТЕЗУ МОНАСТРОЛА

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

Актуальность. Монастрол является представителем семейства дигидропиримидиновых гетероциклов. В настоящее время монастрол активно изучается в качестве противоракового агента благодаря его специфическому влиянию на деление клеток. Известно, что фармакологические свойства 4-арилзамещенных дигидропиримидинов зависят от абсолютной конфигурации стереоцентра С(4). Согласно литературным данным, энантиомеры монастрола являются мощными ингибиторами Eg5 белка KSP. Причем активность S-энантиомера монастрола в 15 раз превышает активность R-энантиомера.

Цель исследования. Нахождение условий и катализаторов для асимметрического синтеза монастрола в результате многокомпонентной реакции (реакции Биджинелли).

Материалы и методы. В качестве хиральных индукторов реакции Биджинелли в настоящее время успешно используются производные пролина и 4-гидроксипролина. Нами синтезирован ряд новых хиральных индукторов – амиды (S)-пролина и амиды 4-гидроксипролина (2S,4R)- и (2S,4S)-рядов, включающие остатки алифатических и ароматических аминов, а также фрагменты хиральных гетероциклических аминов. В качестве гетерогенных катализаторов использовались наноразмерные оксиды металлов с размером частиц 20-80 нм, синтезированные золь-гель методом.

Классически продукты реакции Биджинелли получают в условиях кипячения в присутствии кислоты. Однако проведение реакций при температуре окружающей среды более благоприятно для повышения их стереоселективности. В результате исследования нами были найдены оптимальные условия асимметрического синтеза монастрола: температура 23 °С, тетрагидрофуран, соотношение исходных реагентов альдегид : кетоэфир : тиомочевина = 1 : 3 : 2, загрузка хирального индуктора 10 мол%.

Результаты. Показано, что в случае монастрола известный хиральный индуктор реакции Биджинелли трифторацетат (2S,4R)-4-гидроксипролил-(S)-1-фенилэтиламина не влияет на энантиомерный избыток (ee) продукта, однако в присутствии амидов (2S,4R)-4-гидроксипролина с бензоксазиновым или диоктильным остатками значения ee составили 22 и 30 %, соответственно. Впервые показано, что добавление в реакционную смесь наноразмерного оксида SiO₂-ZrO₂ позволяет увеличить ee до 40 – 45 %, в то время как nanoоксид SiO₂-TiO₂ не влияет на активность хирального индуктора.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 13-03-12188 офи_м) и УрО РАН (Проект 15-21-2-5).

И.Д. Трещалин¹, М.И. Трещалин¹, К.К. Николаева¹, Н.В. Ерёмкин¹, Д.Г. Козлов², С.В. Яроцкий², Э.Р. Переверзева¹

СУБХРОНИЧЕСКАЯ ТОКСИЧНОСТЬ

РЕКОМБИНАНТНОЙ БИОМОДИФИЦИРОВАННОЙ L-АСПАРАГИНАЗЫ Was79¹ФГБНУ «НИИНА», Москва²ФГУП «ГосНИИгенетика», Москва

Цель исследования. Изучение на крысах субхронической токсичности L-аспарагиназы Was79, производной природного фермента *Wolinella succinogenes*, полученного в ФГУП «ГосНИИгенетика».

Материал и методы. Исследования проведены на беспородных крысах самцах и самках. Препарат вводили внутривентриально в разовых дозах 1200 и 12000 МЕ/кг (1 и 10 терапевтических доз (ТД) для крыс в пересчете с ТД для человека) ежедневно 15 дней. Параметры исследования: масса тела, ЭКГ, клинический и биохимический анализ крови, и клинический анализ мочи.

Результаты. Состояние и поведение животных было без особенностей. Прирост массы тела не отличался от контроля. Гематологические показатели и ЭКГ не изменялись. На 1 сутки после курса повышалась активность АЛТ у самцов, получавших 10 ТД препарата. Активность щелочной фосфатазы повышалась как у самцов, так и у самок. Препарат в дозе 10 ТД, на 1 сутки вызывал появление в моче эритроцитов и белка. К концу наблюдения все показатели возвращались к норме.

Выводы. L-аспарагиназа Was79 аналогична известной L-аспарагиназе *E.coli* и проявляет гепато- и нефротоксические свойства при 10-кратном превышении разовой ТД.

И.Д. Трещалин, Т.Б. Переверзева, Е.В. Возняковская, А.Е. Щекотихин, Э.Р. Переверзева

СУБХРОНИЧЕСКАЯ ТОКСИЧНОСТЬ ЛХТА-2034LB5

ФГБНУ «НИИНА», Москва

Цель исследования. Оценка токсических свойств оригинального мультитаргетного противоопухолевого препарата ЛХТА-2034 LB5.

Материалы и методы. Исследования проведены на беспородных крысах самцах. Препарат вводили внутривентриально ежедневно 15 дней в разовых дозах 3 и 4,5 мг/кг, суммарно составляющих МПД и ЛД₅₀ соответственно. Ежедневно на протяжении всего эксперимента оценивали состояние и поведение животных. На протяжении курса и по его окончании контролировали состав периферической крови. На 1 и 30 сутки после курса производили биохимический анализ крови, анализ мочи, ЭКГ, проводили патоморфологическое исследование органов и тканей.

Результаты. В функциональных, гематологических, биохимических и других клинических тестах никаких токсических свойств соединения ЛХТА-2034LB5 не выявлено. Изучение патологических изменений внутренних органов крыс показало, что курсовое применение препарата в дозе, суммарно составляющей МПД, не оказывает повреждающего действия на структуру органов и тканей животных. Введение препарата в дозе, суммарно составляющей ЛД₅₀, приводит к повреждению структуры печени, почки, сердца, двенадцатиперстной и толстой кишки.

Выводы. Зависимость изменений структуры внутренних органов крыс, возникающих под действием ЛХТА-2034LB5, от величины примененной дозы позволяет рекомендовать препарат для дальнейшего изучения.

А.А. Тумашов, В.В. Мусияк, Т.В. Матвеева, Г.Л. Левит, В.П. Краснов

ВАЛИДАЦИЯ ОСНОВНЫХ МЕТОДОВ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА ОРМУСТИН

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

Актуальность. В настоящее время ИОС УрО РАН совместно с РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН проводят доклинические исследования нового противоопухолевого препарата Ормустин, относящегося к классу алкилнитрозомочевин (АНМ). Субстанция Ормустина представляет собой смесь изомеров положения нитрозогруппы в АНМ на основе аминокислоты орнитина. Для контроля качества субстанции препарата Ормустин были разработаны методики количественного определения содержания основного вещества (СОВ) и изомерного состава.

Задачи исследования. Показать путем лабораторных исследований, что методики количественного определения СОВ и изомерного состава позволяют корректно контролировать основные показатели качества субстанции Ормустина.

Материалы и методы. Количественное определение СОВ в субстанции Ормустина проведено спектрофотометрическим методом; валидация методики проведена по следующим характеристикам: специфичность, линейность и прецизионность. Определение изомерного состава в субстанции Ормустина проведено методом ВЭЖХ в обращенно-фазовом варианте; валидацию проводили по следующим характеристикам: специфичность, линейность, прецизионность, правильность, предел количественного определения (ПКО) и робастность. Оценка прецизионности и правильности проведена на пяти модельных смесях, полученных смешением индивидуальных изомеров Ормустина.

Результаты и выводы. Установлено, что методика количественного определения СОВ обладает высокой специфичностью при выполнении анализа при длине волны 396 нм; показана линейность метода в интервале концентраций от 3×10^{-3} до 11×10^{-3} моль/л. Соответствие методики критерию прецизионности подтверждено расчетами показателей относительного стандартного отклонения, суммарной неопределенности анализа, критериев Фишера и Стьюдента. Показано, что методика ВЭЖХ определения изомерного состава обладает высокой специфичностью и надежностью, линейностью в диапазоне концентраций от 0,2 до 200 мкг/мл, ПКО составил 0,2 мкг/мл. Для всех модельных систем вычисленное значение критерия Стьюдента не превышало табличного. Разработанные методы контроля качества фармацевтической субстанции в результате лабораторных испытаний подтвердили возможность их применения для анализа образцов субстанции, предназначенных для приготовления лекарственной формы препарата Ормустин.

Работа выполнена в рамках Госконтракта № 13411.1008799.13.163 «Доклинические исследования противоопухолевого лекарственного средства класса нитрозомочевин».

*Е.Г. Тырсина***СПОСОБНО ЛИ ОБЛУЧЕНИЕ ИНДУЦИРОВАТЬ**

В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ РАЗВИТИЕ ПЕРЕКРЁСТНОЙ РАДИО-ХИМИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ?*ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина», Москва*

Актуальность. Появление рецидивов и повышение их радиорезистентности после курса ЛТ – одна из нерешенных проблем радиационной онкологии. Более того, по ряду сообщений, клетки рецидивов наряду с радиорезистентностью могут приобретать и устойчивость к химиопрепаратам. Ранее *in vitro* нами была выделена радиорезистентная линия потомков злокачественных фибробластов хомячка ПОК-20, выживших после \square -облучения родительских клеток ДХ-ТК в дозе 20 Гр.

Цель исследования. Выяснение вопроса, не индуцировало ли облучение в клетках ПОК-20 кроме втрое возросшей радиорезистентности, возникновения устойчивости к химиопрепаратам?

Материалы и методы. Для этого сравнили чувствительность исходных клеток и её радиорезистентного варианта к противоопухолевым агентам различного механизма действия (цисплатине, адриамицину, колхицину, пуромизину, винбластину, Ага-С, мелфолану, циклогексимиду, актиномицину Д), которые инкубировали с клетками в концентрациях от 10^{-4} до 10^{-10} М. Исследования проводили двумя методами: по колониеобразующей способности и МТТ-тестом. Критерием цитотоксичности служила величина ID_{50} – концентрация препарата, инактивирующая 50 % клеток.

Результаты и выводы. Из 9 веществ возникновение устойчивости в ПОК-20 обнаружено только по отношению к цисплатине; радиорезистентные клетки оказались в 10 раз более устойчивы к этому препарату, чем родительские. Уровень цитотоксичности остальных 8 препаратов для клеток обеих линий достоверно не различался. Данный факт можно объяснить сходством механизмов повреждающего действия ионизирующей радиации и цисплатины, а именно, индукцией свободно-радикальных процессов, основной мишенью которых является клеточное ядро. В отличие от цисплатины, реакция клеток на другие химиопрепараты в основном обусловлена изменениями транспорта этих веществ через клеточную мембрану. По литературным данным, именно устойчивость к препаратам платины сопутствует приобретённой радиорезистентности злокачественных клеток; однако нигде не отмечалась обратная картина, когда в результате развития лекарственной устойчивости клетки стали бы радиорезистентны.

Мы полагаем, что вероятность возникновения химиорезистентности после облучения злокачественных клеток следует учитывать при проведении комбинированной лучевой-химиотерапии опухолей, а также при выборе тактики лечения радиорезистентных рецидивов.

*Е.Г. Тырсина***ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА АВЗВ В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВА ИНДИВИДУАЛЬНОГО ПРОГНОЗА И МОНИТОРИНГА ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ.***ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина», Москва*

Актуальность. Разработка новых подходов для прогноза индивидуальной чувствительности пациентов к лучевой и химиотерапии остается актуальной задачей. В последнее время предлагают в качестве детерминанты в реакции клетки на внешнее воздействие рассматривать конформацию интерфазного хроматина. К чувствительным методам, позволяющим регистрировать структурные перестройки хроматина, относится метод аномальных временных зависимостей вязкости (АВЗВ). Ранее *in vitro* с применением этого метода нами было показано, что устойчивость опухолевых клеток к радиации и цисплатине прямо коррелирует с компактизацией их хроматина. Предполагая, что метод АВЗВ может оказаться чувствительным не только на клеточном, но и на организменном уровне, целью исследования являлась оценка возможности использования метода АВЗВ в качестве средства индивидуального прогноза и мониторинга проводимого лечения.

Материалы и методы. Для исследований использовали ядросодержащие клетки крови 48 больных раком молочной железы и 10 здоровых доноров в качестве контроля. Клетки в заданной концентрации лизировали по стандартной методике, после чего проводили измерения вязкости нуклеоидов на ротационном вискозиметре. В качестве оценочного критерия компактизации хроматина использовали среднюю величину максимальной приведённой (на клетку) вязкости η . У всех больных параметр η измеряли до лечения, а у 20 пациентов ещё в течение 1 недели после терапии.

Результаты и выводы. В группе здоровых доноров отмечена тенденция снижения степени компактизации хроматина с возрастом. Показатели вязкости хроматина лимфоцитов здоровых людей находились в диапазоне $(20 - 40) \times 10^{-6}$ на клетку, в то время как вариабельность этого параметра у больных была существенно шире, составляя $(4 - 80) \times 10^{-6}$ на кл. Показано, что плотность хроматина в клетках онкобольных ниже, чем у здоровых до 40 лет и практически не отличается от степени компактизации у пожилых людей старше 60 лет. В ходе ЛТ обнаружено, что больные с исходно релаксированным хроматином ($\eta > 50 \times 10^{-6}$) крайне тяжело переносили назначенный курс радиотерапии. При химиотерапии, через сутки после введения препаратов (адреабластин, циклофосфан, 5-фторурацил) в клетках крови пациентов была зарегистрирована резкая относительная релаксация хроматина в 3 – 12 раз, которая на 3 – 4 день сменялась компактизацией, уровень которой все же был значимо ниже исходной. Однако при повторном курсе химиотерапии вязкость хроматина в течение 1 недели оставалась на аномально высоком уровне ($\eta > 50 \times 10^{-6}$). Выявленные закономерности между плотностью упаковки хроматина и реакцией пациента на противоопухолевую терапию показывают сниженную адаптационную возможность конформационных переходов хроматина в ответ на внешнее воздействие у онкобольных. При этом степень компактизации интерфазного хроматина и её изменения в ходе проводимой терапии, по-видимому, является неспецифической реакцией, отражающей текущее физиологическое состояние организма.

*А.А. Фильченков¹, М.П. Завелевич¹, Л.М. Куява¹, В.В. Семенов², М.Н. Семенова³***СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ И АНТИМИТОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ**

НОВЫХ ИЗОКСАЗОЛЬНЫХ И ПИРАЗОЛЬНЫХ АНАЛОГОВ КОМБРЕТАСТАТИНА А4 (КА4)¹ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев²ИОХ им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва³ИБР им. Н.К.Кольцова РАН, Москва

Задачи исследования. Большое количество современных исследований в области медицинской химии посвящено разработке новых синтетических аналогов комбретастатинов, обладающих конфигурационной стабильностью, сильным антипролиферативным действием наряду с минимальными побочными эффектами и способностью преодолевать множественную лекарственную устойчивость. Пятичленные гетероциклы, в том числе изоксазолы и пиразолы, рассматриваются как биоизостерная, неизомеризуемая и метаболически устойчивая замена двойной связи в *цис*-стильбенах, закрепляющая кольца А и В в *цис*-положении, что необходимо для оптимального связывания с тубулином – клеточной мишенью комбретастатинов.

Материалы и методы. Комбретаизоксазолы (NMR/57797, NMR/57574) и комбретапиразолы (NMR/57525, NMR/97854, NMR/97897, NMR/57607) были синтезированы в ИОХ. Для сравнения использовали КА4 (OXiGENE Inc., США). Цитотоксическую активность соединений исследовали *in vitro* на клетках линии Jurkat Т-клеточного лимфолейкоза человека. Определяли эффективную концентрацию препаратов, вызывающую гибель 50 % клеток в культуре за 72 ч инкубации (ЭК₅₀). Антимитотическое действие соединений исследовали *in vivo* на зародышах морского ежа *Paracentrotus lividus* L. Определяли эффективную пороговую концентрацию препаратов, вызывающую нарушение или остановку деления яйцеклеток после оплодотворения (дробление) и изменение подвижности зародышей. Оседание зародышей на дно сосуда с последующим спиннингом является свидетельством того, что антимитотическое действие испытуемого соединения обусловлено дестабилизацией микротрубочек.

Результаты и выводы. Результаты исследований на зародышах морского ежа показали, что все испытанные аналоги КА4 вызывают спиннинг зародышей в субмикромольных концентрациях. Комбретаизоксазолы NMR/57797 и NMR/57574 оказались более токсичными для клеток Jurkat в сравнении с комбретапиразолами, причем ЭК₅₀ соединения NMR/57797 была на порядок ниже, чем у КА4, и составила 0,5 нмоль/л. Среди комбретапиразолов наиболее активные соединения NMR/97854 и NMR/57607 имели ЭК₅₀ 15 нмоль/л и 25 нмоль/л, соответственно, тогда как NMR/57525 и NMR/97897 были на порядок менее токсичными. В случае комбретаизоксазолов результаты, полученные на зародышах морского ежа, а именно способность этих соединений нарушать дробление и плавательное поведение зародышей, хорошо совпадают с данными по цитотоксичности на клетках Jurkat. Результаты исследования свидетельствуют о высокой цитотоксической и антимитотической активности новых синтетических производных КА4.

Н.А. Харьковца**ПЕРЕВЯЗОЧНЫЕ СРЕДСТВА «КОЛЕГЕЛЬ» В ЛОР-ПРАКТИКЕ**

БУЗ ВО ВГКБ № 17, Воронеж

Цель исследования. Определить эффективность полифункциональной депо-системы на гелевой основе «Колегель-АДЛ» пролонгированного действия с использованием фактора «покоя» для раневой поверхности послеоперационных больных по поводу онкологических пролиферативных процессов синоназальной зоны, с направленным подведением к этой локализации введенных в данное перевязочное средство (ПС) фармакологических препаратов.

Материалы и методы. Высокоструктурированный перевязочный материал «Колегель-АДЛ», содержащий диоксидин (0,5 + 1 мг/см), лидокаин (1,5 + 1 мг/см) и полимерную основу – альгинат натрия, обладающую гемостатическим, противовоспалительным, регенерирующим действием.

Результаты. На фоне использования перевязочных средств на гелевой основе с диоксидином, лидокаином и альгинатом натрия в первой фазе раневого процесса, по данным клинко-лабораторных исследований, раневая поверхность санировалась к 2 – 3 суткам, что на 2 – 5 дней раньше, чем в контрольной группе. Антисептик диоксидин, уменьшает риск инфицирования раневых поверхностей, что к 5 – 7 суткам позволяет уменьшить воспалительные реакции со стороны общих анализов крови и мягких тканей, это на 2 – 3 дня раньше чем в контрольной группе. Использование «Колегель-АДЛ» высокой степени структурируемости и упругости в качестве длительно стоящего тампона, с импрегнированным в ПС анестетиком лидокаином, уменьшало болевую импульсацию локально, позволяя уменьшить парентеральное применение обезболивающих средств. Уменьшалось количество перевязок, способствуя «тканевому покою» раны, и обеспечивая пролонгированную дозированную доставку лекарственных препаратов к раневой площади, сам перевязочный материал впоследствии подвергается биодеструкции. При паллиативных операциях на синоназальном комплексе данное перевязочное средство не на тканевой основе предотвращает такие осложнения как ликворея, восходящий менингит, кровотечение.

Вывод. Таким образом, данная полифункциональная депо-система на гелевой основе может быть рекомендована для местного лечения раневого процесса в оториноларингологии в плане терапии и профилактики гнойных осложнений раневых поверхностей больных с онкопатологией синоназальных синусов, как местное противовоспалительное, гемостатическое, антисептическое и обезболивающее средство. Данное ПС высокой степени структурируемости и упругости может быть применено в качестве длительно стоящего тампона, не требующего смены, и впоследствии биодеструктурируемого.

Д.С. Хачатрян¹, А.В. Колотаев¹, А.Н. Бадаев², В.Н. Осипов², К.А. Охманович²**ДИЗАЙН И СИНТЕЗ НОВЫХ ЛИНЕЙНЫХ ПЕПТИДНЫХ АНАЛОГОВ СОМАТОСТАТИНА**¹ФГУП «ИРЕА», Москва

²ЗАО «Фарм-Синтез», Москва

Задачи исследования. Выбор вариантов и разработка оптимальных методов синтеза пептидных аналогов гипоталамического гормона соматостатина.

Материалы и методы. Аналоги соматостатина в настоящее время широко применяются в диагностике и лечении различных заболеваний, особенно эндокринных расстройств и рака, в том числе препараты Октреотид и Ланреотид, широко используемые в медицинской практике. Исследования в области синтеза новых пептидных аналогов соматостатина постоянно расширяются. Одним из перспективных направлений является поиск активных соединений в области коротких линейных пептидов с различными функциональными заместителями. Наша работа направлена на синтез модифицированных линейных пентапептидов, являющихся фрагментами природного соматостатина.

Результаты. На основании анализа литературных данных проведен выбор вариантов модифицированных пентапептидов и стратегий их синтеза. Разработаны новые оптимизированные методы получения защищенных аминокислот, используемых для синтеза целевых пентапептидов. Разработанные методы позволяют получать защищенные аминокислоты с хорошими выходами и высокими показателями качества, при наименьшей затрате средств, с низкой себестоимостью производства. Исследованы возможности получения защищенных аминокислот одnoreакторным методом, включающим в себя две стадии синтеза. Исследовано влияние на выход и чистоту конечных соединений таких условий как использование различных реагентов, их соотношения и параметров проведения процесса.

Выводы. В результате проведенных исследований разработаны новые одnoreакторные методы синтеза двух защищенных аминокислот: ϵ -N-трет-бутилоксикарбонил-L-лизина и N-трет-бутилоксикарбонил-1.3-L-тиазолидин-4-карбоновой кислоты и оптимизированы условия синтеза пяти защищенных аминокислот, используемых для синтеза пептидных аналогов соматостатина.

А. Хашем¹, Е.В. Игнатьева², М.Т. Зангиева², В.П. Краснов³, Л.А. Король¹, А.Ю. Барышников²

РАЗРАБОТКА ОПТИМАЛЬНОГО СОСТАВА ЛИПОСОМАЛЬНОГО ЛИЗОМУСТИНА

¹Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва

²ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

³Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, Екатеринбург

Актуальность. На сегодняшний день включение противоопухолевых агентов в состав наночастиц дает возможность значительно снизить токсичность и повысить эффективность лекарственной терапии за счет уменьшения концентрации свободного препарата в кровеносном русле. В частности, липосомы пролонгируют действие препарата, предотвращают развитие побочных реакций и обладают высокой биодоступностью. Лизомустин – оригинальный отечественный препарат, созданный совместно Институтом органического синтеза Уральского отделения АН СССР и ВОИЦ АМН СССР. Он обладает высокой противоопухолевой активностью в отношении широкого спектра опухолей экспериментальных животных как солидных (рак легкого LLC, рак шейки матки РШМ-5, карциномы Са-775, меланомы В-16 и др.), так и лейкозов (L-1210, Р-388, МОРС, лейкоз Мазуренко и др.), превосходя по эффективности известные противоопухолевые соединения различных классов. Основным недостатком лизомустина является невысокая избирательность действия на опухолевые клетки, и отсюда – значительная общая токсичность. Это делает актуальной проблему создания лекарственных форм (ЛФ) нитрозопроизводных, увеличивающих избирательность их противоопухолевого действия.

Цель исследования. Разработать технологию получения липосомальной формы лизомустина.

Результаты. Точные навески фосфатидилхолина, холестерина и ПЭГ растворяли в хлороформе. Затем липидную пленку сушили на ротаторном испарителе. Включение препарата проводили по принципу пассивной загрузки. Липидную пленку гидратировали раствором субстанции лизомустина в 10 мл деионизированной воды путем интенсивного встряхивания колбы до полного смывания липидной пленки со стенок колбы и образования белой эмульсии. Полученную липидную пленку подвергали экструзии через поликарбонатные фильтры с размером пор 400, 200 и 100 нм с помощью мини-экструдера (Avanti Polar Lipids). Измерение среднего диаметра наночастиц проводили на приборе Submicron Particle Sizer Nicomp-380 (США). Для разделения включившегося от не включившегося в частицы препарата использовали метод гель-фильтрации на колонке C10/20 (GE Healthcare, Великобритания), заполненную сефадексом G-50. Содержание препарата в везикулах определяли методом спектрофотометрии при λ 230±2 нм.

Выводы. Получена липосомальная форма лизомустина. Степень загрузки препарата в липосомы составляет 50±2 %. Размер липосом составляет 130±5 нм.

Н.Р. Хилал¹, А.В. Калугин¹, Д.В. Новиков¹, Р.Г. Пегов², А. Кашанова², А.В. Алясова², В.В. Новиков¹

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ RAGE И TRAG3 В КРОВИ БОЛЬНЫХ РТК

¹ННГУ им Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород

²ГБОУ ВПО НижГМА, Нижний Новгород

Актуальность. Поиск новых молекулярных маркеров для мониторинга и ранней диагностики рака толстой кишки (РТК) является актуальной задачей. Известны раково-тестикулярные гены RAGE и TRAG3. Показана высокая экспрессия гена RAGE в крови больных раком почки, легкого и простаты. Ген TRAG3 был выявлен в образцах опухоли молочной железы и мочевого пузыря. Экспрессия генов RAGE и TRAG3 при РТК мало изучена. В данной работе проведен анализ частоты обнаружения мРНК генов RAGE и TRAG3 в образцах крови больных РТК для оценки их диагностической информативности.

Материалы и методы. Проанализировано 36 образцов периферической крови больных РТК. Матричную РНК генов RAGE и TRAG3 определяли с помощью двухраундовой ОТ-ПЦР. Визуализацию результатов проводили с использованием электрофореза нуклеиновых кислот.

Результаты и выводы. Проведенный анализ выявил мРНК TRAG3 гена в крови 4 из 36 образцов (11,1 %) и мРНК RAGE гена в крови 2 из 36 образцов (5,5 %). Все эти образцы имели схожую стадию развития опухоли (третью и четвертую). У всех больных, положительных к генам TRAG3 и RAGE, наблюдались метастазы в печени или легких. Таким образом, частота встречаемости мРНК генов TRAG3 и RAGE в крови больных РТК не является высокой, а наличие мРНК этих генов свидетельствует о тяжелом течении заболевания.

Т.С. Хлыстова¹, М.А. Коровина¹, Н.Д. Олтаржевская¹, Я.Б. Миркин²

ЛЕЧЕБНЫЕ ГИДРОГЕЛЕВЫЕ КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В УРОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

¹ООО «КОЛЕТЕКС», Москва

²ООО «Международный медицинский центр «УРО-ПРО», Москва

Актуальность. В последние годы большое внимание уделяется не только вопросам повышения эффективности лечения онкологических больных, но и сохранению качества их жизни. Так, одним из самых распространенных осложнений у пациентов, получающих химиотерапию, особенно в сочетании с лучевой терапией по поводу рака мочевого пузыря, является цистит различной этиологии и явление гематурии. Учитывая агрессивное воздействие, оказываемое проводимым лечением на организм пациента и непосредственно на органы малого таза (особенно на уротелий), курс лечения для таких больных связан с болями, расстройствами мочеиспускания, симптомами общей интоксикации.

Цель исследования. Определить эффективность использования полимерных гидрогелевых биodeградируемых материалов «Колегель-Уролайн» на основе альгината натрия с лекарственными препаратами для профилактики и лечения реакций со стороны мочевого пузыря пациентов, страдающих лучевым циститом.

Материалы и методы. В исследовании участвовали 68 женщин: 30 здоровых добровольцев и 38 женщин, страдающих лучевым циститом. Материалы гидрогелевые на основе альгината натрия в шприцах по 20 мл: «Колегель-уро» с диоксидином и лидокаином, «Колегель-Уролайн» с деринатом. До начала исследования был определен уровень ИЛ-8 в моче у всех участниц. Затем пациенткам с лучевым циститом был проведен курс внутрипузырной терапии гидрогелевыми композициями «Колегель-Уролайн»: 1 этап – 8 инстилляций композиции, содержащей альгинат натрия, диоксидин и лидокаин (2 раза в неделю); 2 этап – 8 инстилляций композиции, содержащей альгинат натрия, деринат и лидокаин (2 раза в неделю). Через 2 недели после окончания лечения была выполнена оценка концентрации ИЛ-8 в моче. Кроме того, оценивался болевой синдром по визуальной аналоговой шкале (ВАШ) и поллакиурия.

Результаты. В исследуемой группе уровень ИЛ-8 до лечения составил $59,5 \pm 20,5$, после лечения – $9,4 \pm 2,8$ (пг/мл). Болевой синдром по ВАШ: до лечения $6,8 \pm 2,2$, после – $3,1 \pm 0,8$. Поллакиурия снизилась с $28,1 \pm 7,3$ до $13,5 \pm 3,8$.

Выводы. Внутрипузырная терапия гидрогелевыми композициями на основе альгината натрия «Колегель-Уролайн» продемонстрировала свою эффективность при лучевом цистите и может быть рекомендована для широкого внедрения в клиническую практику.

Л.М. Хромых, Н.П. Маркова, И.С. Голубева, А.А. Калинина, И.А. Кудрявцев, Д.Б. Казанский

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ЭФФЕКТ РЕКОМБИНАНТНОГО ЦИКЛОФИЛИНА А ЧЕЛОВЕКА

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина», Москва

Актуальность. Циклофилин А (ЦфА, 18 кДа) белок, обладающий изомеразной активностью и участвующий в регуляции клеточной пролиферации, передаче сигнала от Т-клеточного рецептора, обладает антиоксидантными свойствами. ЦфА является провоспалительным фактором, индуцируя миграцию миелоидных клеток и активированных Т-лимфоцитов.

Цель работы. Изучение влияния рекомбинантного ЦфА человека (рчЦфА) на рост *in vivo* опухолей различного гистогенеза.

Материалы и методы. Использованы штаммы перевиваемых опухолей мышей: рак шейки матки РШМ-5, аденокарцинома молочной железы Са 755, меланома В16, карцинома легкого Льюиса LLC. Белок вводили в дозе 100 мкг/мышь в течение 7 дней после перевивки опухоли. Оценку эффективности рчЦфА осуществляли по показателям торможения роста опухоли (ТРО) и увеличению продолжительности жизни мышей (УПЖ).

Результаты. Наиболее значительный эффект рчЦфА отмечался у мышей с РШМ-5. ТРО на 43 сутки роста этой опухоли составляло 59 %, УПЖ мышей достигало 46 %. Достоверный уровень ТРО наблюдался также при действии рчЦфА у мышей меланомой В16 (25 день), карциномой Льюиса (18 день) и карциномой молочной железы Са755 (20 день).

Вывод. Полученные данные показывают, что рчЦфА обладает выраженным противоопухолевым эффектом у мышей с новообразованиями разного гистогенеза.

В.А. Чалей, О.И. Коняева, Н.Ю. Кульбачевская, Н.П. Ермакова, А.А. Сергеев, К.А. Серезин, В.М. Бухман

ИЗУЧЕНИЕ «ОСТРОЙ» ТОКСИЧНОСТИ ОРМУСТИНА НА МЕЛКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Цель исследования. Изучение «острой» токсичности лиофилизированной лекарственной формы ормустина (ЛЛФО) на мышах и крысах.

Материалы и методы. Работа проведена на 120 здоровых мышах самцах и самках линии BDF₁, полученных из питомника «Столбовая», и 144 здоровых неинбредных беспородных крысах-самцах, полученных из разведения ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина». Изучена «острая» токсичность ЛЛФО на 3-х сериях: 031013, 060114, 080114. Препарат вводили однократно внутривенно в диапазоне доз 120 – 300 мг/кг в рекомендованной концентрации 15,7 мг/мл (растворитель – 5% раствор глюкозы). Срок наблюдения за животными составил 30 суток.

Результаты. При изучении «острой» токсичности ЛЛФО на мышах-самках наблюдалась гибель животных на 1 – 12, 14 и 24 сутки наблюдения в дозах 180 – 240 мг/кг и у самцов в дозах 200 – 300 мг/кг, на фоне ярко выраженных сосудистых нарушений и гастроинтестинальной токсичности. На 3 – 5 сутки после введения препарата в высоких дозах и перед гибелью у мышей отмечались: пилоэрекция, учащенное дыхание, сужение глазных щелей. У мышей самок и самцов, получавших ЛЛФО во всех дозах, отмечено дозозависимое снижение массы тела по сравнению с изменениями массы тела контрольных групп, начиная с 3 суток и до конца опыта с тенденцией к восстановлению массы тела к 30 суткам наблюдения. Расчетные токсические дозы ЛЛФО для мышей самцов: ЛД₁₀=193 мг/кг, ЛД₅₀=213 (199÷226) мг/кг; для мышей самок ЛД₁₀=169 мг/кг, ЛД₅₀=192 (181÷206) мг/кг. При изучении «острой» токсичности ЛЛФО на крысах отмечалась гибель животных на 2 – 15 сутки наблюдения после введения препарата в дозах 200 – 300 мг/кг на фоне ярко выраженных сосудистых нарушений и гастроинтестинальной токсичности. На 3 – 5 сутки после введения препарата в высоких дозах и перед гибелью у крыс отмечалось: пилоэрекция, учащенное дыхание, сужение глазных щелей, кровавистые выделения из глаз и носа, диарея с кровью. У крыс самок и самцов, получавших ЛЛФО в дозах 120 – 180 мг/кг, резкого снижения массы тела не наблюдалось, однако в дозах 200 – 300 мг/кг отмечено резкое дозозависимое снижение массы тела по сравнению с изменениями массы тела контрольных групп, начиная с 3 суток и до конца наблюдения. Расчетные токсические дозы ЛЛФО при однократном внутривенном введении для крыс самцов: ЛД₁₀=189 мг/кг, ЛД₅₀= 206(195÷215) мг/кг; для крыс самок ЛД₁₀=172 мг/кг, ЛД₅₀= 200(191÷209) мг/кг.

Заключение. Полученные результаты по изучению «острой» токсичности ЛЛФО позволяют рекомендовать его для дальнейшего изучения.

Х.М. Швед, О.В. Кеца, И.А. Шмариков

ВЛИЯНИЕ ω -3 ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗЫ В МИКРОСОМНОЙ ФРАКЦИИ ПЕЧЕНИ КРЫС-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ

Черновицкий национальный университет им. Ю. Федьковича, Черновцы, Украина

Актуальность. Развитие в организме злокачественного новообразования сопровождается усиленным продуцированием токсических веществ, основная часть которых обезвреживается печенью. Ведущую роль в детоксикации этих веществ играет глутатион-S-трансфераза (GST), исследование активности которой на разных стадиях онкогенеза может служить критерием генотоксического действия продуктов метаболизма опухоли на отдаленные органы. Полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) могут проявлять гепатопротекторные свойства в условиях онкогенеза.

Цель работы. Изучение активности GST в микросомной фракции печени крыс с трансплантированной карциномой Герена в условиях введения ω -3 ПНЖК. В работе использовались самки беспородных крыс. Животных разделили на 2 группы: I – крысы с трансплантированной карциномой Герена; II – крысы с карциномой Герена, трансплантированной на фоне предварительного восьминедельного введения ω -3 ПНЖК в дозе 120 мг/кг.

Результаты проведенных исследований показали, что по мере роста в организме карциномы Герена снижается активность микросомной GST – энзима II фазы биотрансформации ксенобиотиков, с минимальными значениями в стационарную фазу онкогенеза (21 сутки после трансплантации опухоли). Вероятно, интенсивное накопление продуктов метаболизма опухоли превышает возможности клеточной системы детоксикации печени. Предварительное введение ω -3 ПНЖК приводит к повышению активности GST в микросомной фракции печени крыс в логарифмическую фазу онкогенеза (14 сутки после трансплантации опухоли), что может быть ответом на образование продуктов свободнорадикального окисления. Катализируя реакции нуклеофильного присоединения тиольной группы глутатиона к электрофильному центру субстрата, GST обеспечивает локальную защиту клеток печени крыс-опухоленосителей.

Заключение. Таким образом, применение ω -3 ПНЖК в комбинации с противоопухолевыми препаратами может повысить противоопухолевый эффект и снизить гепатотоксичность последних.

В.М. Шелепова, З.Г. Кадагидзе, Е.В. Калиничева

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РОМА В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ОПУХОЛЕЙ ЯИЧНИКОВ

ФГБНУ «РОНЦ им.Н.Н.Блохина», Москва

Актуальность. Опухолевые образования яичников диагностируются более чем у 20 % женщин. Надежных методов, позволяющих распознать природу опухоли до операции, не существует. В маркерной диагностике в этих целях используется показатель ROMA (алгоритм риска рака яичников (РЯ)), расчет которого основан на измерении двух маркеров (ОМ) – СА125 и HE4 – с учетом статуса менопаузы. При дискриминационном уровне (ДУ) 11,4 % (пременопауза) и 29,9 % (постменопауза) чувствительность ROMA в выявлении РЯ составляет по разным данным 83 – 94 %. При этом специфичность недостаточно высока: каждая четвертая женщина с доброкачественным образованием (ДОЯ) попадает в группу высокого риска по РЯ.

В задачу работы входило оптимизировать ROMA с целью повышения его диагностической специфичности.

Материалы и методы. СА125 и HE4 определяли в сыворотках, полученных от 242 женщин: здоровые доноры (n=47), пациентки с ДОЯ (n=86), больные РЯ (n=109). Концентрация ОМ измерялась на автоматическом анализаторе ELECSYS 2010 (Hoffmann-La Roche) с использованием реагентов этого же производителя.

Результаты. Поправки ROMA касались вычисления прогностического индекса (PI). Оптимизированные нами формулы (ROMA-РОНЦ) позволили значительно повысить специфичность (до 97,7 %). Показано, что использование формул для вычисления ROMA-РОНЦ равнозначно повышению ДУ ROMA приблизительно в 2 раза. Иными словами, вычисление новых формул проще заменить новыми ДУ, причем этот прием оказался рациональным только для статуса «пременопауза», где значения ROMA ниже 11,4 % ассоциировались с ДОЯ (ОПП 93,9 %); выше 22 % – с РЯ (ППП 97,5 %); все пациентки с показателями ROMA в диапазоне 11,4 – 22,0 % («серая зона») нуждаются в дополнительном обследовании. У пациенток в постменопаузе ДУ остается прежним – 29,9 %.

Выводы. Использование одновременно двух подходов (ROMA и ROMA-РОНЦ) позволяет повысить эффективность дифференциальной диагностики образований яичников, главным образом, за счет пациенток в пременопаузе. Результаты носят предварительный характер.

Е.А. Шестакова, Е.А. Дудко, М.В. Родионова, А.В. Гришанина, Р.Ю. Раманаускайте, Т.А. Богуш

СРАВНИТЕЛЬНАЯ КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ПРОГЕСТЕРОНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ТКАНИ РАКА ЯИЧНИКА И РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Актуальность. В настоящее время растет интерес к гормонотерапии, являющейся золотым стандартом адъювантного лечения рака молочной железы (РМЖ). В частности, показана эффективность антиэстрогенов и ингибиторов ароматазы в лечении рака яичника (РЯ). В настоящем исследовании для определения перспектив гормональной терапии РЯ в ткани опухолей этой локализации в сравнении с РМЖ проведена количественная оценка прогестероновых рецепторов (ПР), экспрессия которых является предиктивным маркером эффективности антиэстрогеновой терапии.

Материалы и методы. Иммунофлуоресцентная оценка экспрессии ПР проведена в 52 хирургических образцах РЯ и РМЖ с использованием метода проточной цитофлуориметрии. Суспензии клеток опухоли инкубировали с первичными антителами (PgR636, DAKO) в течение ночи и 1,5 часа со вторичными антителами (ab98729). Показатели экспрессии ПР анализировали с помощью программы FlowJo статистическим методом Колмогорова-Смирнова. Уровень экспрессии ПР – количество специфически флуоресцирующих клеток относительно общего количества: высокий – количество специфически окрашенных клеток в опухоли $\geq 30\%$, умеренный – $< 30\%$.

Результаты. 1. Экспрессия ПР идентифицирована в большинстве образцов РМЖ (82 %) и РЯ (70 %) с более низким средним уровнем экспрессии ПР в ткани РЯ, чем РМЖ ($23,0 \pm 11,9\%$ и $30,1 \pm 14,1\%$, $p=0,056$). 2. Число случаев с умеренным уровнем экспрессии ПР было выше в ткани РЯ, чем РМЖ (76 % и 50 %), а с высоким – ниже в ткани РЯ по сравнению с РМЖ (24 % и 50 %). 3. Различий в средних показателях уровня экспрессии ПР в ткани РЯ и РМЖ для групп с умеренной ($21,5 \pm 4,6\%$ и $24,4 \pm 4,1\%$, $p=0,1$) и высокой ($45,0 \pm 5,2\%$ и $43,6 \pm 10,6\%$, $p=0,7$) экспрессией ПР не выявлено.

Выводы. Результаты оценки экспрессии прогестероновых рецепторов в ткани рака яичников свидетельствуют о возможности эффективного применения антиэстрогеновой терапии у значительного числа пациентов, но меньшего, по сравнению с раком молочной железы.

Исследование поддержано грантами РФФИ (№№ 13-04-01004-а, 15-04-06991-а, 14-04-31734-мол-а) и ФИМТ-2014-205.

И.П. Шилов¹, А.И. Панас¹, А.С. Рябов¹, Е.П. Новичихин¹, К.С. Щамхалов¹, А.В. Иванов²

ПОРТАТИВНЫЙ ЛАЗЕРНО-ВОЛОКОННЫЙ ФЛУОРИМЕТР ИК-ДИАПАЗОНА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ КОЖНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

¹ФГБУН «ИРЭ им. В. А. Котельникова РАН, Фрязинский филиал», Фрязино
ФГБНУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина», Москва

Актуальность. Известно, что иттербиевый комплекс 2,4-диметоксигематопорфирина IX (ИКДГ) является перспективным маркером люминесцентной диагностики (ЛД) различных форм новообразований, поскольку он обладает характерной для порфиринов туморотропностью, не фототоксичен и люминесцирует в ближнем ИК-диапазоне спектра 800 – 1100 нм, находящемся в «окне прозрачности» биотканей.

Цель работы. Создание и апробация портативного лазерно-волоконного флуориметра (ЛВФ) ИК-диапазона для исследования заболеваний кожи и слизистых оболочек.

Материалы и методы. В качестве диагностикума для изучения поражений кожи и слизистых использовали фармацевтическую композицию (ФК) на основе ИКДГ. Исследования люминесцентного диагностического контрастного индекса новообразование/норма (ЛДКИ) при воспалительных и пролиферативных процессах с применением разработанного ЛВФ осуществлялись в ФГБУ «ГНЦ Лазерной Медицины ФМБА РФ» на пациентах-волонтерах с различными поражениями кожи (гемангиома, невус, кератома, экзема и т.д.). **Результаты.** Для данного спектрального диапазона был разработан и изготовлен опытный образец ЛВФ повышенной чувствительности для исследования заболеваний кожи. ЛВФ состоит из следующих основных элементов: 405нм-полупроводниковый лазер, волоконно-оптический зонд (ВОЗ) повышенной механической прочности, блок отражающих интерференционных фильтров, фотодиодный блок с усилителем, аналогово-цифровой преобразователь (АЦП), ноутбук с разработанной программой. В процессе исследования дистальный конец 13-жильного ВОЗ устанавливался вблизи поверхности кожного покрова, включался 405нм-полупроводниковый лазер с оптической мощностью на дистальном конце до 10мВт. ИК-люминесцентный сигнал ИКДГ выделялся блоком отражательных интерференционных фильтров и поступал на фотодиодный блок с усилителем. После усиления и оцифровки с помощью АЦП сигнал воспринимался на ноутбуке в виде временного профиля интегральной интенсивности люминесценции от каждой изучаемой зоны. В процессе исследований было показано, что по истечении 40 мин после обработки кожного покрова данной ФК измеренный ЛДКИ составил 2,5 – 5,0 в зависимости от типа кожного повреждения и концентрации ИКДГ в ФК.

Заключение. Разработанный портативный ЛВФ ИК-диапазона обеспечивает достижение высоких значений ЛДКИ, что позволяет с повышенной точностью определять границы распространенности поражений кожи, изучать накопление ИКДГ при воспалительных и пролиферативных процессах с целью выявления их отличий от раковых заболеваний, контролировать изменение накопления ИКДГ в процессе лечения.

Т.Г. Шкаврова, Г.Ф. Михайлова, Е.В. Голуб, В.В. Цепенко, В.В. Павлов
**ДИНАМИКА МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ
У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЦИТАРНЫМ ЛЕЙКОЗОМ**

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «ФМИЦ им. П.А. Герцена» Минздрава России, Обнинск

Цель исследования. Изучить динамику цитогенетических нарушений у больных хроническим лимфоцитарным лейкозом (ХЛЛ).

Задачи исследования. Провести цитогенетический мониторинг эффективности проводимой терапии, изучить динамику выявленных нарушений в постклиническом периоде.

Материалы и методы. Исследование выполнено на образцах периферической крови больных ХЛЛ методом интерфазной флуоресцентной in situ гибридизации (I-FISH). От 2 до 5 раз на протяжении 2 – 67 месяцев были обследованы 20 пациентов. В работе использован коммерческий набор молекулярных зондов (Vysis, USA) для выявления делеций 17p13 (ген p53), 11q22 (ген ATM), 13q14 (ген Rb1), 13q34 и трисомии хромосомы 12.

Результаты. Выявлено, что после проводимой терапии частота маркерных aberrаций хромосом, как правило, значительно снижалась, но, спустя некоторое время (9 – 12 месяцев), она возрастала до первоначального уровня. У 4 больных ХЛЛ, не нуждающихся в терапии, частота маркерных aberrаций оставалась на одном уровне.

Выводы. Проведение динамического цитогенетического наблюдения за больными подтверждает его практическую значимость, а также может внести ценный вклад в понимание патогенеза ХЛЛ.

И.Ж. Шубина, Ю.А. Борисова, Г.Б. Смирнова, М.В. Киселевский, Е.М. Трещалина, З.С. Шпрах
**ДИССЕМИНАЦИЯ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ CA755
В КОСТНЫЙ МОЗГ МЫШЕЙ НА ФОНЕ СЕЛЕКТИВНЫХ МОДИФИКАТОРОВ**

ЭСТРОГЕННЫХ РЕЦЕПТОРОВ (СМЭР)*ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина», Москва*

Актуальность. Эссенциально связанные с эстрогенами цитокератины СК19 в периферической крови и костном мозге (КМ) являются маркерами циркулирующих и диссеминированных опухолевых клеток (ЦОК, ДОК) при раке молочной железы и свидетельствуют о минимальной резидуальной болезни. СМЭР в определенных дозах выступают как эстрогены и, соответственно, могут быть промоторами опухолевой диссеминации.

Материалы и методы. Использованы эстроргензависимая мышьяная аденокарцинома молочной железы Ca755 из Коллекции РОНЦ на мышах-самках BDF₁, разделенных на 3 группы (n=17). Часть мышей не получала лечения и взята для контроля роста опухоли (гр.1). СМЭР: пероральные тамоксифен (Там) (гр.2) и секоизоларицирезинол (СЕКО) (гр.3) вводили 10-дневным курсом в оптимальных ингибирующих рост опухоли дозах. На сутки, соответствующие окончанию курса СМЭР, у всех мышей забирали периферическую кровь и клетки КМ, которые окрашивали моноклональными антителами против СК19 («Dako», USA). Подсчет СК19+ клеток выполняли с помощью флуоресцентной и световой микроскопии методами проточной цитометрии и иммунофлуоресцентной спектроскопии с использованием программы WinMDI 2.8. по средней геометрической интенсивности флуоресценции клеток GeoMean (geometrical mean fluorescence intensity) с разбросом и коэффициентом вариации CV.

Результаты. Показано, что после применения СМЭР в образцах крови 1 – 3 групп все показатели были сходными GeoMean(±SD): 31,94±5,02; 28,87±13,7; 28,02±9,50 и CV(±SD) 24,74±2,60; 17,76±1,51; 20,11±0,22, соответственно. Та же картина получена в образцах КМ: GeoMean(±SD) 30,14 ± 2,33; 39,07±2,30; 32,48±3,75 и CV(±SD) 16,57±1,8; 19,29±0,54; 17,05±1,05, соответственно. Иммунофлуоресцентный анализ позволил выявить в костном мозге единичные СК19+ клетки у всех групп мышей с привитой опухолью.

Заключение. Цитологическая верификация единичных клеток Ca755, экспрессирующих эпителиальный маркер СК19 в костном мозге и крови всех групп мышей, а также иммунофлуоресцентный анализ СК19+ клеток позволили выявить отсутствие стимуляции диссеминации эстроргензависимой опухоли в костный мозг под действием СМЭР (тамоксифен или СЭКО).

*Н.А. Шуканова¹, Н.А. Козловская², М.А. Мартынова¹, Е.В. Шаповал², И.М. Бушмакина¹, М.М. Молчан¹***ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ХОЛИНЭСТЕРАЗ В КРОВИ ПАЦИЕНТОК С ДИАГНОЗОМ ФИБРОАДЕНОМА И РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ЦЕЛЬЮ МОНИТОРИНГА ОПУХОЛЕВОГО ПРОЦЕССА***¹Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь**²РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александрова, Минск, Беларусь*

Задачи исследования. Разработка дополнительного метода мониторинга и прогнозирования течения фиброаденомы (ФАД) и рака молочной железы (РМЖ) с использованием сравнительного анализа активности холинэстераз (ХЭ) в крови пациенток.

Материалы и методы. Активность ХЭ в микроколичествах крови пациенток определяли стандартным методом с использованием реактива Элмана в присутствии ингибитора бутирилхолинэстеразы (БуХЭ) iso-ОМПА или ингибитора ацетилхолинэстеразы (АХЭ) BW284c51. Активность ХЭ выражали в относительных единицах увеличения оптической плотности суспензии разведенной в 1000 раз крови ($\lambda = 436$ нм) в минуту в пересчете на величину, отражающую содержание гемоглобина в крови и полученную гемихромным методом с использованием 0,06% раствора додецилсульфата натрия в фосфатном буфере.

Результаты и выводы. Определены значения активности ХЭ в крови 37 пациенток с первично верифицированным диагнозом РМЖ и 27 пациенток с диагнозом ФАД. Для всех злокачественных опухолей определены молекулярно-генетические подтипы РМЖ: люминальный А, люминальный Б, Her2-позитивный и трижды-негативный. Установлено, что активность БуХЭ в крови пациенток с диагнозом ФАД существенно меньше активности этого фермента в крови пациенток с диагнозом РМЖ всех четырех подтипов с уровнем значимости $P < 0,001$. Активность АХЭ в крови пациенток с диагнозом ФАД также ниже, чем в крови пациенток с диагнозом РМЖ, но уровень значимости составляет 0,1-0,05, что свидетельствует только о тенденции уменьшения активности. Следует отметить, что определение активности ХЭ в крови давно используют при мониторинге риска постоянного или случайного воздействия токсичных фосфорорганических соединений, для контроля успешности лечения детей с острым лимфобластным лейкозом. Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о возможности использования дешевого и доступного метода для отслеживания трансформации доброкачественной фиброаденомы в злокачественные формы опухоли молочной железы и дополнительного контроля успешности лечения РМЖ.

*Н.М. Шумилова¹, И.П. Шилов², А.С. Рябов², В.Д. Румянцев³, Ю.В. Алексеев¹, А.В. Иванов⁴***НАКОПЛЕНИЕ ИТТЕРБИЕВЫХ КОМПЛЕКСОВ ПОРФИРИНОВ В ПАТОЛОГИЧЕСКИ ИЗМЕНЕННЫХ ТКАНЯХ КОЖИ И СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК**

¹ФГБУ «ГНЦ лазерной медицины ФМБА», Москва

²ФГБУН «ИРЭ им. В. А. Котельникова РАН, Фрязинский филиал», Фрязино

³МИТХТ им. М.В. Ломоносова, Москва

⁴ФГБНУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина», Москва

Цель исследования. Изучить возможность селективного накопления иттербиевых комплексов порфиринов (ИКП) на основе фармацевтических композиций для наружного применения с помощью определения интенсивности флуоресценции в тканях.

Материалы и методы. Фармацевтические композиции с 0,05% раствором амфифильного комплекса Yb-2,4-диметоксигематопорфирина IX для наружного нанесения на кожу и слизистые оболочки. Макетный вариант лазерно-волоконного флуориметра (ЛВФ), диапазон измерения 900 – 1100 нм. Больные – волонтеры с дисгидротической экземой, розацеа, аспе vulgaris, гемангиомами, себорейными кератомами, вульвовагинитом. Препараты наносились на участки патологически измененных кожи и слизистых однократно в небольших количествах. Время экспозиции 40 мин., остатки препарата удалялись 30%-ным спиртовым раствором. Флуоресценция возбуждалась излучением 405 нм, результаты измерений обрабатывались специальной компьютерной программой с построением графиков.

Результаты. Установлено, что фоновые показатели здоровых тканей без нанесения ИКП составляли от 0,12 до 0,25 Относительных единиц (ОЕ). После нанесения препарата на кожу на 40-й мин. интенсивность флуоресценции – от 2,4 до 3 ОЕ. С течением времени интенсивность флуоресценции носила параболический характер с возвращением к исходному уровню через 120 мин. При дисгидротической экземе на 40-й мин. измерения интенсивности флуоресценции составляла 6,5 ОЕ. При розацеа (папуло-пустулезная форма) и аспе vulgaris в воспалительной папуле от 5,5 до 8,1 ОЕ, эритематозных очагах – 5,4 ОЕ, пустулах – 8,2 ОЕ. В гемангиомах – 7,2 ОЕ, себорейных кератомах от 7,0 до 15,2 ОЕ, вульвовагинитах с эрозиями от 4,4 до 17 ОЕ (в местах эрозии). В процессе лечения показатели возвращались к исходным значениям.

Выводы. Наружное нанесение ИКП и измерение флуоресценции в ИК-диапазоне показывает существенное их накопление в местах измененной кожи и слизистых оболочек по сравнению со здоровыми тканями. Предполагается, что при наборе достаточного клинического материала будут выявлены пороговые значения флуоресценции для здоровых и измененных тканей в зависимости от нозологических форм заболеваний, стадии, выраженности процесса и его локализации, что позволит осуществлять дифференциальную диагностику и контроль за эффективностью проводимой терапии.

Т.Г. Шутова, Ж.В. Игнатович

НАНОКАПСУЛЫ С ВОДОРАСТВОРИМЫМИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ

ИХНМ НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Коллоидно-устойчивые нанокapsулы со структурой ядро/оболочка перспективны для создания новых инъекционных форм противоопухолевых препаратов. Полисахаридное гелевое ядро обеспечивает высокую степень включения водорастворимых соединений, а мультислойная оболочка на основе модифицированных полиэтиленгликолем биополимеров – высокую коллоидную устойчивость частиц и резистентность поверхности к адсорбции белков.

На основе привитых сополимеров хитозана и полиэтиленгликоля (Хит-г-ПЭГ) получены капсулы диаметром менее 250 нм с мультислойной оболочкой (Хит-г-ПЭГ/декстран сульфат)_n и ядром пектината кальция. Использование сополимера с заданной длиной основной (18 кДа) и боковых (1,6 кДа) цепей и степенью прививки g = 6-21 позволяет получить устойчивые дисперсии наночастиц методом послойной сборки без промежуточной отмывки.

При адсорбции в нанокapsулы водорастворимые соединения с противоопухолевой активностью, иматиниб метансульфонат (**I**) и его аналог 4-(морфолинометил)-N-{2-метил-5-[4-(пиридин-3-ил)пиримидин-2-иламино] фенил}бензамида метансульфонат (**II**), замещают кальций в геле полисахарида. Массовая доля **I** и **II** в ядре нанокapsул зависит от концентрации субстанции в растворе и максимально достигает 0,3 г/г с.в. Высвобождение соединений из нанокapsул носит пролонгированный характер. При этом частицы пектината кальция без оболочки медленно набухают и разрушаются. В зависимости от температуры, в течение 1 ч высвобождается от 30 до 60 % включенного соединения. При 37 °C в среде RPMI-1640 80 % соединения высвобождается в течение 3 – 6 ч, а 100 % – в течение 24 ч. Пролонгированное высвобождение Ииматиниба объясняет более высокую активность наночастиц с **I** в опытах на клеточной линии K562 миелоидного лейкоза, по сравнению с раствором **I**.

Пленки (Хит-г-ПЭГ/декстрансульфат)_n проявляют высокую резистентность к адсорбции белков эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС). Методом кварцевого микровзвешивания показано, что с увеличением длины привитого полиэтиленгликоля и числа слоев в пленке адсорбция белков ЭТС на ее поверхности уменьшается. Покрывая, содержащие более 5,5 числовых Хит-г-ПЭГ/декстрансульфат, полностью ингибируют адсорбцию белков.

С.Н. Шаева

ХИРУРГИЧЕСКАЯ ТАКТИКА ПРИ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННОМ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ, ОСЛОЖНЕННОМ ОБТУРАЦИОННОЙ КИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТЬЮ.

ГБОУ ВПО СГМА, Смоленск

Цель исследования. Оценить результаты оперативных вмешательств при местнораспространенном колоректальном раке, осложненном обтурационной кишечной непроходимостью.

Материалы и методы: изучены результаты лечения 549 больных с местнораспространенным раком толстой кишки, осложненным обтурационной непроходимостью. Лечение проводилось в стационарах Смоленска и Смоленской области за период 2001 по 2012 гг. Средний возраст больных составил $62 \pm 1,5$. Из них 187 пациентам выполнены радикальные одноэтапные хирургические вмешательства, 152 многоэтапные; 87 больным циторедуктивные и 123 пациентам симптоматические операции.

Результаты. Хирургические вмешательства на толстой кишке комбинировали с удалением единым блоком вовлеченных в опухолевый процесс органов и тканей. Инвазия злокачественной опухоли у женщин наиболее часто наблюдалась в тонкую кишку, брыжейку и другие отделы толстой кишки, в женские половые органы. При гистологическом исследовании послеоперационных макропрепаратов истинное прорастание опухоли в соседние органы и ткани подтверждено 84,1 % случаев. В остальных наблюдениях 15,9 % опухолевое прорастание в рядом расположенные органы имело характер перифокального воспаления ($p < 0,05$). Большее количество симптоматических операций было произведено пациентам в тяжелом и крайне тяжелом состояниях. Наиболее распространенной гистологической формой злокачественного новообразования толстой кишки была аденокарцинома у 94,4 % ($n=518$). Чаще наблюдалась средняя и низкая степень дифференцировки (соответственно в 32,9 % и 53,3 %). Из осложнений отмечались нагноение послеоперационной раны – 24 случая (4,4 %), пневмония 16 (2,9 %) и несостоятельность анастомоза $n=15$ (2,7 %). Летальность составила 1,6 % ($n=9$) в раннем послеоперационном периоде, с преобладанием в группе с радикальными одноэтапными операциями.

Выводы: 1) при местнораспространенном раке толстой кишки, осложненном кишечной непроходимостью показаны комбинированные операции; 2) летальность после комбинированных оперативных вмешательств достоверно не отличается от стандартных операций.

Г.М. Юсубалиева^{1,2}, А.В. Леопольд², А.В. Левинкий², В.П. Баклаушев², П.А. Мельников², Е.А. Лукьянец⁴, С.А. Савельева², М.А. Холодцова³, В.Б. Лощенов³, А.А. Потапов², В.П. Чехонин^{1,2}

ИНТРАОПЕРАЦИОННАЯ ДИАГНОСТИКА ГРАНИЦ ОПУХОЛЕВОЙ ИНВАЗИИ С ПОМОЩЬЮ КОНЬЮГАТА РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИ-СХ43 АНТИТЕЛ С ПРОИЗВОДНЫМ ФТАЛОСЕНСА

¹ФГБУ «ФМИЦПН» Минздрава России, Москва

²ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва

³ФБГУ «Институт общей физики имени А.М. Прохорова» РАН, Москва

⁴Государственный научный центр «НИОПИК», Москва

⁵НИИ нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко, Москва

Актуальность. Точное определение границ опухолевой инвазии занимает значительную нишу в современной нейрохирургии глиом (Tréhin R et al, 2006). Невекторизованные фотосенсибилизаторы не обладают таргетной направленностью к мигрирующим глиомным клеткам перитуморальной зоны. Антитела, полученные к коннексину 43 (MabE2Cx43), способны в них накапливаться [Baklaushv V.P. et al., 2009; Yusubalieva G.M. et al, 2012].

Цель исследования. Оценить применение конъюгата рекомбинантных антител Сх43 с производным фталосенса в интраоперационной диагностике границ глиомной инвазии.

Материалы и методы. Манипуляции на крысах с 12-дневной глиомой С6 проводились в соответствии с требованиями GLP. Доступ к головному мозгу крыс выполняли методом резекционной трепанации черепа в лобно-теменных областях. Для интраоперационной диагностики использовалась ЛЭСА-01-БИОСПЕК.

Результаты. Были аплифицированы гены, кодирующие вариабельные домены лёгкой и тяжёлой цепей MabE2Cx43, очищены рекомбинантные Fab Cx43 из лизата E.coli методом металлоаффинной хроматографии. Присоединение производного фталосенса к FabCx43 проводили в присутствии водорастворимого хлоргидрата 1-этил-3-(3-диметиламинопропил) карбодиимида, освобождались от несвязавшихся компонентов методом гель-фильтрации на Сефадекс G-25 в PBS (pH 6,0). Иммунохимическим методом оценивали биологическую активность конъюгата. После внутривенного введения конъюгата при спектральном анализе глиомы и периглиомной зоны крыс был зафиксирован высокий флуоресцентный сигнал в зоне экспрессии Сх43 по периферии глиомы.

Выводы. Оптическая визуализация флуоресцирующей перитуморальной зоны в режиме реального времени продемонстрировала перспективность векторизованных FabCx43 фотосенсибилизаторов для интраоперационной навигации в нейрохирургии глиом.

Н.П. Яворская, И.С. Голубева, В.А. Ерёмкина, Н.И. Тихонова, Л.А. Медведева, Т.Д. Миникер, Л.В. Эктова, М.В. Дмитриева, Е.В. Санарова.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ИНДОЛО[2,3-А]КАРБАЗОЛОВ

ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Актуальность. Данная работа является продолжением исследований по синтезу и изучению противоопухолевой активности производных N-гликозидов индолакарбазолов. Известно, что соединения этого класса обладают биологической активностью, в том числе противоопухолевой. В работе изучались соединения с различными заместителями по имидному атому азота, включая атом водорода, amino-, гидроксиэтил-, пиколиноил-, никотиноил-, изоникотиноил-аминогруппы, и разными углеводными остатками (D-галактозы, D-ксилозы, D-рибозы и L-арабинозы).

Цель исследования. Поиск высокоэффективного противоопухолевого соединения с широким спектром действия.

Материалы и методы. Противоопухолевую активность (п/а) соединений изучали на перевиваемых опухолях мышей: лимфоидной лейкемии P388, асцитной опухоли Эрлиха, эпидермоидной карциноме лёгкого LLC, раке шейки матки РШМ-5, меланоме В-16, аденокарциноме молочной железы АК-755, раке толстого кишечника АКАТОЛ. В опытах использовали мышей СВА, BALb/c, гибридов BDF₁. Критерии эффективности: % торможения роста опухоли (ТРО), % увеличения продолжительности жизни животных (УПЖ). Соединения вводили внутривентально в течение 5 дней в терапевтических дозах с использованием в растворе ДМСО, а также в лекарственной форме, в которой в качестве солюбилизатора использовался коллидон (Kollidon 17PF).

Результаты и выводы. Все изученные соединения обладали цитотоксической активностью. Из 25 соединений 16 проявили противоопухолевую активность на асцитных моделях с УПЖ от 86 до 347 %, 9 соединений показали непосредственный эффект до 8-го дня по окончании лечения, 8 соединений проявили значительную активность на моделях солидных опухолей с сохранением значимого ТРО от 59 до 69 % от 16 до 25 дней по окончании лечения. Отобраны четыре соединения для более детального изучения, из них высокую активность на солидных моделях проявило одно соединение с УПЖ 33 % и ТРО 57 – 90 %.

Д.М. Ягудаяв¹, В.А. Енгай², А.С. Алферов³, Д.Р. Айвазян³, В.А. Пурхванидзе⁴

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ, КАК ОРГАНОСОХРАНЯЮЩИЙ МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ РАКА ПОЛОВОГО ЧЛЕНА

¹ФГБУ УНМЦ УД Президента РФ, Москва

²ГБУЗ ГКБ 51 ДЗМ, Москва

³ФМБА ГНЦ лазерной медицины МЗ РФ, Москва

⁴МЦВТ «Лазервита», Москва

Введение. В России рак полового члена (РПЧ) не превышает 2 % в структуре онкологических заболеваний. До настоящего времени основным методом лечения РПЧ остаётся оперативный, который является не только калечащим методом, но и сильным психотравмирующим фактором. Выполнение органосохраняющих операций при раке полового члена сопряжено с более высокой частотой развития местных рецидивов. В связи с этим, постоянно ведётся поиск новых методов лечения, способных не только сохранить орган и его функциональные способности, но и свести к минимуму риск рецидивирования опухоли. Одним из таких методов является фотодинамическая терапия (ФДТ), хорошо зарекомендовавшая себя в лечении злокачественных новообразований других локализаций.

Цель работы. Определение эффективности и безопасности фотодинамической терапии рака полового члена.

Материалы и методы. Нами была проведена ФДТ трём пациентам с неинвазивным плоскоклеточным раком полового члена. Использовался фотосенсибилизатор (ФС) Фотодитазин. Способ введения – внутривенно, доза – 0,8-1,2 мг/кг, лекарственно-световой интервал – 2 – 3 часа. Удельная доза световой энергии составила 300 Дж/см². После ФДТ отмечалась полная резорбция опухоли с отличным косметическим эффектом. При цитологическом исследовании атипичные клетки не были обнаружены.

Заключение. ФДТ является щадящим, органосохраняющим и высокоэффективным методом лечения рака полового члена, позволяющим не только избавить пациента от опухоли, но и сохранить анатомо-функциональную целостность органа.

М.Н. Якунина¹, Г.Б. Смирнова¹, Ю.А. Борисова¹, М.С. Калишьян¹, Е.М. Трещалина¹, М.О. Антар²

РЕЗУЛЬТАТЫ ДОКЛИНИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ НОВОЙ СХЕМЫ ДОКСОРУБИЦИН + ГЕМЦИТАБИН ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

СПОНТАННОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КОШЕК¹ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», Москва²Ветеринарная клиника «Биоконтроль», Москва

Актуальность. Низкая чувствительность спонтанного местно-распространенного рака молочной железы (РМЖ) кошек к доксорубину (ДОКС) особенно в предоперационном периоде, лимитированная побочным действием, была основанием для апробации в эксперименте эффективной при РМЖ комбинации с гемцитабином (ГЕМЦ), который не имеет перекрестной с ДОКС токсичности.

Цель работы. Экспериментальная оценка целесообразности применения комбинации ДОКС+ГЕМЦ при неоперабельном местно-распространенном РМЖ кошек на доклинической модели.

Материалы и методы. Использованы мыши-самки BDF₁ с Ca755. В комбинации ДОКС вводили первым в однократной дозе 7,5 мг/кг, ГЕМЦ вводили вторым: 1) при неоперабельной опухоли (9 сутки роста) однократно в диапазоне 50 – 200 мг/кг для выбора суммарных доз в комбинации; 2) при раннем лечении (2 сутки роста) в суммарных дозах 100 мг/кг (30+30+40 мг/кг) и 200 мг/кг (70+70+60 мг/кг) в клинически адекватном еженедельном режиме. Об эффективности судили в сравнении с одним ДОКС и группой контроля роста опухоли (КРО) по стандартным показателям: 1) ТРО \geq 50 % в динамике, ТРО=100 % после окончания считали полной ремиссией (ПР); 2) УПЖ \geq 25 % в сравниваемых группах; 3) в леченых группах оценивали излечение (ПР \geq 50 дней). Соотношение эффективных доз (СЭД) комбинантов использовано для возможности пересчета доз для кошек. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$ (программа Excel для Windows 2010).

Результаты. На неоперабельной опухоли для курсового введения ГЕМЦ в комбинации ДОКС+ГЕМЦ в качестве суммарных были выбраны хорошо переносимые эффективные дозы 100 и 200 мг/кг ТРО=85 – 92 % против ТРО=83 – 93 % для ДОКС ($p > 0,05$). При раннем лечении ДОКС+ГЕМЦ лучшим был дозовый режим с высокой суммарной дозой ГЕМЦ 200 мг/кг: достигнута ПР с УПЖ=80 % против 30 % для ДОКС ($p < 0,05$) (СПЖ=25,2 \pm 0,4 дня в гр. КРО) и излечением 30 % мышей. СЭД=26,6 (200/7,5). Режим с дозой 100 мг/кг излечения не давал. Переносимость комбинаций была удовлетворительной.

Заключение. Схема ДОКС+ГЕМЦ с однократным парентеральным введением ДОКС и 3-кратным еженедельным введением ГЕМЦ при соотношении доз 26,6 приводит к полной относительно длительной ремиссии, значимо пролонгирует жизнь мышей на 80 % с частичным излечением. Это позволяет считать изучение комбинации ДОКС+ГЕМЦ целесообразным при предоперационном лечении неоперабельного местно-распространенного рака РМЖ у кошек.

*И.В. Ярцева, Е.В. Игнатьева, Н.А. Дмитричева, З.С. Шпрах***ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦИФЕТРИЛИНА В ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ***ФГБНУ «РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА», МОСКВА*

Актуальность. Цифетрилин – новый отечественный препарат, предназначенный для лечения нейроэндокринных опухолей. Для клинических исследований предлагается лекарственная форма «Цифетрилин, таблетки 6 мг».

Цель работы. Валидация методики количественного определения цифетрилина в лекарственном препарате.

Материалы и методы. Образцы лекарственной формы цифетрилина; УФ-спектроскопия, методы статистической обработки результатов.

Результаты. Количественное определение цифетрилина проводили спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность спиртовых растворов в наиболее интенсивном максимуме поглощения λ_{\max} 282 \pm 2 нм относительно раствора смеси вспомогательных веществ. Для снижения систематических и случайных ошибок при определении цифетрилина в методику анализа ввели способ расчета по стандартному образцу, в качестве которого использовали субстанцию цифетрилина. Валидацию метода проводили по параметрам: линейность, правильность, прецизионность (точность), воспроизводимость. Обработка экспериментальных данных показала, что результаты количественного определения хорошо описываются линейной зависимостью $y = 0,0563 \cdot x + 0,0012$; при этом коэффициент корреляции составляет $r = 0,99937$ и отвечает условию $|r| \geq 0,99$. Оценку правильности методики проводили на модельных смесях с содержанием цифетрилина от 80 до 120 %. Точность методики оценивали по результатам анализа усредненной пробы, полученной из 20 таблеток, воспроизводимость – по результатам выполнения анализа двумя исполнителями. Стандартное отклонение, доверительный интервал определения и относительная ошибка результата, вычисленные по результатам анализа 7 проб, составили $S = 0,107$; $\Delta x = 0,10$; $\varepsilon = 1,65 \%$ ($P = 95 \%$), соответственно. Численное значение коэффициента нормированных отклонений (коэффициента Стьюдента), рассчитанное по результатам анализа составило $t_x = 0,46$. Табличное значение коэффициента Стьюдента $t(95 \%, 6) = 2,45$, т.е. $t_x < t(95 \%, 6)$.

Выводы. Валидация показала, что предложенная методика не отягощена систематическими ошибками, обладает достаточной точностью и воспроизводимостью.

Работа выполнена при поддержке Министерства промышленности и торговли РФ в рамках Федеральной целевой программы «Фарма-2020».

*Л.В. Татьянаенко, О.В. Доброхотова, А.И. Котельников, Н.А. Санина, Г.И. Козуб,**Т.А. Кондратьева, С.М. Алдошин.***ВЛИЯНИЕ СЕРО-НИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА НА АКТИВНОСТЬ Ca²⁺-**

АТФазы САРКОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА И ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ цГМФ*Институт проблем химической физики РАН, 142432, Черноголовка, Россия*

Введение. Известно, что Ca^{2+} -АТФаза СР катализирует активный транспорт ионов Ca^{2+} через биологические мембраны за счет энергии гидролиза АТФ, что нарушает соотношение концентрации ионов Ca^{2+} внутри и вне клеток и играет важную роль в процессах адгезии метастатических клеток к эндотелию капилляров, предотвращая рост метастазов. Фосфодиэстераза цГМФ (ФДЭцГМФ) расщепляет субстрат цГМФ, который участвует в важных процессах жизнедеятельности организма и определяет антиагрегационные и вазодилаторные функции организма. Нитрозильные комплексы железа – природные «депо» NO в клетках, образующиеся в реакциях эндогенного NO с активными центрами негемовых $[\text{2Fe-2S}]$ белков. Их синтетические модели используются при разработке нового поколения лекарственных препаратов.

Цель исследования. Изучение молекулярных механизмов влияния новых серо-нитрозильных комплексов железа на функцию Ca^{2+} -АТФазы СР и ФДЭцГМФ с целью отбора соединений как потенциальных лекарственных препаратов антиметастатического, антиагрегационного, антигипертензивного и вазодилаторного спектров действия.

Результаты и выводы. Исследовано влияние новых нейтральных нитрозильных комплексов железа общего состава $[\text{Fe}_2(\text{L})_2(\text{NO})_4]$ с функциональными серосодержащими лигандами: L- 3-нитро-фенол-2-илом (комплекс 1), 4-нитро-фенол-2-илом (комплекс 2) и 1-метил-тетразол-5-илом (комплекс 3) на активность Ca^{2+} - АТФазы СР и ФДЭцГМФ. Показано, что комплексы 1 и 2 полностью тормозят активный транспорт Ca^{2+} и гидролиз АТФ, катализируемые Ca^{2+} - АТФазой СР, в 0,1 и 0,01мМ концентрациях, на $(72\pm 7)\%$ и $(52\pm 5)\%$ тормозят активный транспорт Ca^{2+} и на $(18\pm 2)\%$ и $(22\pm 2)\%$ ингибируют гидролиз АТФ в концентрации 0,001мМ, разобщая гидролитическую и транспортную функции фермента. Комплекс 3 на $(50\pm 5)\%$ тормозит транспортную функцию Ca^{2+} - АТФазы СР и на $(39\pm 4)\%$ - гидролиз АТФ в 0,1мМ концентрации. Соединения 1, 2 и 3 обратимо и неконкурентно тормозят гидролитическую функцию Ca^{2+} - АТФазы СР с K_i , равной $2 \cdot 10^{-6}\text{М}$, $1 \cdot 10^{-6}\text{М}$ и $3,3 \cdot 10^{-4}\text{М}$, соответственно. В результате установлено, что данные соединения разобщают гидролитическую и транспортную функции фермента, нарушая баланс ионов Ca^{2+} в клетках, что влияет на адгезию метастатических клеток к эндотелию капилляров и на образование тромбов. Все исследованные нитрозильные комплексы железа тормозят функцию ФДЭцГМФ в 0,1 и 0,01мМ концентрациях, способствуя накоплению вторичного мессенжера метаболита цГМФ, ответственного за антиагрегационный, антигипертензивный и вазодилаторный эффекты в живых организмах. Полученные данные позволяют предполагать, что исследованные нитрозильные комплексы железа могут рассматриваться в качестве потенциальных лекарственных средств.

А.Ю. Рыбкин¹, Д.А. Полетаева¹, А.Ю. Белик², Н.С. Горячев¹, И.И. Пархоменко¹, А.А. Терентьев¹, П.А. Михайлов³, Е.А. Хакина¹, О.А. Краевая¹, П.А. Трошин¹, А.И. Котельников¹

ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ДИАД ФУЛЛЕРЕН-ФЛУОРЕСЦЕИН И ФУЛЛЕРЕН-ЭОЗИН В МОДЕЛЬНОЙ СРЕДЕ И НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК HeLa*¹Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка, Россия.**²Московский физико-технический институт,**³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова.*

Введение. Производные фуллерена представляют интерес для применения с точки зрения создания новых препаратов для фотодинамической терапии, так как способны с высоким квантовым выходом (~ 1) переходить в триплетное состояние и эффективно генерировать синглетный кислород $^1\text{O}_2$. Однако эффективность фотодинамического действия фуллеренов ограничивается их слабым поглощением в красной области спектра, наиболее удобной для фотодинамической терапии. Одним из путей решения данной проблемы является создание гибридных диад путем присоединения к фуллерену красителя, эффективно поглощающего в видимой области спектра.

Цель исследования. Определение фотодинамической активности водорастворимых поликатионной и полианионной диад фуллерен-флуоресцеин, а также полианионной диады фуллерен-эозин.

Материалы и методы. Водорастворимые диады и исходные полизамещенные производные фуллерена (ППФ) синтезированы в ИПХФ РАН, структура соединений доказана методами ИК- и УФ-спектроскопии, спектроскопии ядерного магнитного резонанса на ядрах ^1H и ^{13}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. Разработаны методы определения концентрации ППФ и диад в исследуемых системах методом люминесценции и методом спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния.

Результаты и выводы. Было показано, что происходит существенное усиление фотодинамической активности диад по сравнению с исходными соединениями, как в модельной среде (в 3 раза для диады фуллерен-эозин и в 9 раз для диады фуллерен-флуоресцеин), так и на культуре клеток HeLa (в 3 раза). Также было отмечено отсутствие темновой токсичности на культуре клеток HeLa как для исходных ППФ, так и для диад в действующих концентрациях вплоть до $2 \cdot 10^{-4}\text{М}$. Наблюдаемый эффект увеличения фотодинамической активности диад фуллерен-краситель показывает перспективность подобных гибридных диад как новых эффективных фотосенсибилизаторов для применения в фотодинамической терапии.

Исследования поддержаны Программой Президиума РАН №1 «Наноструктуры: физика, химия, биология, основы технологий» и грантом РФФИ № 14-04-31587 мол а.

А.И. Котельников, А.Ю. Рыбкин, Н.С. Горячев, А.Ю. Белик, П.А. Михайлов, Е.А. Хакина, П.А. Трошин

ФОТОДИНАМИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ НА ОСНОВЕ ГИБРИДНЫХ НАНОСТРУКТУР ФУЛЛЕРЕН-КРАСИТЕЛЬ

Институт проблем химической физики РАН, 142432, Черноголовка, Россия

Введение. В медицинской практике для фотодинамической терапии широко используются производные порфиринов, фталоцианинов и хлоринов, которые при поглощении кванта света переходят в триплетное состояние, в результате чего генерируются активные формы кислорода и подавляется развитие опухолей.

В рамках проведенных исследований обнаружено, что при объединении в одну гибридную структуру красителя и фуллерена энергия возбуждения красителя эффективно передается на фуллерен, и далее с высоким выходом трансформируется в генерацию активных радикальных частиц. Это открывает возможность использовать для создания фотодинамических препаратов нового поколения красители, возбуждаемые не только в триплетное, но и в синглетное состояние. В результате значительно повышается фотодинамическая активность традиционных красителей и расширяются пути поиска новых красителей, удовлетворяющих широкому спектру разносторонних требований, предъявляемых к фотодинамическим препаратам.

Цель исследования. Создание высокоэффективных фотодинамических препаратов нового поколения на основе ковалентных комплексов фуллерен-краситель.

Материалы и методы. Разработаны научные принципы и методы создания водорастворимых ковалентных структур фуллерен-краситель, в которых поглощение красителем кванта света приводит к переносу энергии или электрона на фуллерен. Осуществлено ковалентное присоединение к производным фуллерена красителей флуоресцеина, эозина, противоопухолевого антибиотика рубоксила и других красителей. Методами стационарной и кинетической спектрофлуориметрии показано, что при возбуждении красителя в составе гибридной структуры в синглетное возбужденное состояние происходит эффективный перенос возбуждения или электрона с красителя на фуллерен, с последующей генерацией активных форм кислорода. Фотодинамическая активность гибридных структур исследовалась в водных растворах и в структуре липосом, по влиянию на ДНК и на клеточные культуры.

Результаты и выводы. Показано, что объединение в одну гибридную структуру красителя и фуллерена позволяет повысить фотодинамическую активность традиционных красителей в 5 – 50 раз, или использовать красители, возбуждаемые только в синглетное состояние, что значительно расширяет возможности поиска оптимальных красителей для создания высокоэффективных фотосенсибилизаторов нового поколения.

Исследования поддержаны Программой Президиума РАН №1 «Наноструктуры: физика, химия, биология, основы технологий» и грантом РФФИ №14-04-31587мол_а.