

УДК 616.24-006.25:615.277.3:615.011.5

М.П. Киселева¹, З.С. Шпрах¹, Л.М. Борисова¹, И.Ю. Кубасова¹, Л.Г. Деженкова², Д.Н. Калужный³,
 А.В. Ланцова¹, Е.В. Санарова¹, А.А. Штиль¹, Н.А. Оборотова¹, З.С. Смирнова¹, А.Ю. Барышников¹

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНОГО N-ГЛИКОЗИДА ИНДОЛКАРБАЗОЛА ЛХС-1208. СООБЩЕНИЕ II

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

²ФГБНУ Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе, Москва

³Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, Москва

Контактная информация

Киселева Марина Петровна, научный сотрудник лаборатории экспериментальной химиотерапии НИИ ЭДнТО

адрес: 115478 Москва, Каширское шоссе, 24; тел: +7(499)612-87-86

e-mail: marina-kiselyova@mail.ru

Статья поступила 08.05.2015, принята к печати 10.06.2015/

Резюме

Представлены результаты доклинического изучения противоопухолевой активности производного N-гликозида индокарбазола ЛХС-1208 на эпидермоидной LLC и исследованы механизмы противоопухолевого действия. При изучении избирательности противоопухолевого действия ЛХС-1208 на LLC рассчитан терапевтический индекс TI_{50} , равный 2,8. Оценка действия на метастазирование LLC в легкие мышей ЛХС-1208 в дозах 125 мг/кг и 150 мг/кг показывает, что применение соединения в качестве адъювантной химиотерапии (ТРМ=45 % и 44 % соответственно) более эффективно, чем при неадъювантной химиотерапии (ТРМ=33 % и 31% соответственно). Установлено преимущество ЛХС-1208 по длительности противоопухолевого действия в сравнении с иринотеканом: в течение 20 дней после окончания лечения ТРО составляет 95 % – 52 % и 94 % – 27% соответственно. Комбинация ЛХС-1208 с иринотеканом в дозах, составляющих половину от терапевтической дозы комбинантов (75 мг/кг и 33 мг/кг соответственно) вызывает синергический противоопухолевый эффект. Механизм противоопухолевого действия обусловлен интеркаляцией ЛХС-1208 в двухцепочечную ДНК и ингибированием активности топоизомеразы I.

Ключевые слова: производное индокарбазола, ЛХС-1208, противоопухолевая активность, эпидермоидная карцинома легкого, интеркаляция, ДНК, топоизомераза I.

M.P. Kiseleva¹, Z.S. Shprakh¹, L.M. Borisova¹, I.Yu. Kubasova¹, L.G. Dezhenkova, D.N. Kaluzhny³,
 A.V. Lantsova¹, E.V. Sanarova¹, A.A. Shtil¹, N.A. Oborotova¹, Z.S. Smirnova¹, A.Yu. Baryshnikov¹

PRECLINICAL STUDY OF ANTITUMOR ACTIVITY OF INDOLOCARBAZOLES N-GLYCOSIDES DERIVATIVE LCS-1208. REPORT II

¹FSBI «N.N. Blokhin RCRC», Moscow

²FSBSI G.F. Gause Institute of New Antibiotic, Moscow

³V.A. Engelhardt Institute of Molecular Biology of RAS, Moscow

Abstract

The report presents the results of preclinical study of N-glycoside indolocarbazole derivative LCS-1208 antitumor activity in epidermoid LLC; mechanisms of antitumor action were studied as well. Therapeutic index TI_{50} equal to 2.8 was calculated during evaluation of LCS-1208 antitumor selective action on LLC. The assessment of LCS-1208 effect on metastasis in lungs in doses 125 mg/kg and 150 mg/kg shows that the agent is more effective as adjuvant chemotherapy (MGI=45% and 44%, respectively) than neoadjuvant chemotherapy (MGI=33% and 31%, respectively). LCS-1208 had the proved advantage of antitumor effect duration compared to irinotecan: TGI was 95% – 52% and 94% – 27%, respectively, for 20 days after completed therapy. Combination of LCS-1208 with irinotecan in half doses of those combined agents (75 mg/kg and 33 mg/kg, respectively) resulted in synergic antitumor effect. Mechanism of antitumor action is determined by LCS-1208 intercalation in the two-stranded DNA and inhibition of topoisomerase I function.

Key words: indolocarbazole derivative, LCS-1208, antitumor activity, epidermoid Lewis lung carcinoma (LLC), intercalation, DNA, topoisomerase I.

Введение

В сообщении I [8] представлены результаты доклинического изучения противоопухолевого дей-

ствия производного N-гликозида индокарбазола ЛХС-1208. Установлена зависимость противоопухолевой активности препарата от дозы и режима применения на моделях опухолей разного гистогенеза. Так, на лимфобластозах (лейкоз Р-388 и лим-

фаденоз Фишера L5178Y) показана высокая эффективность ЛХС-1208 (25 мг/кг) при ежедневном внутривенном введении в течение 5 дней (УПЖ=76 % и 83 % соответственно). На модели лимфаденоза Фишера в 33 % случаев наблюдается полное излечение животных, проживших 90 дней без признаков опухолевого процесса. На моделях солидных опухолей – LLC и рака шейки матки РШМ-5 – ЛХС-1208 эффективен при однократном внутривенном введении в дозе 150 мг/кг (ТРО=95 % – 81 % и ТРО=74 % – 56 % в течение 9 дней соответственно). При исследовании противоопухолевого действия ЛХС-1208 на развившуюся опухоль LLC показано статистически значимое торможение роста опухоли: 51 % и 47 % на 3 и 7 дни соответственно, после однократного внутривенного введения в дозе 150 мг/кг.

Сравнительное изучение эффективности лекарственной формы ЛХС-1208 и субстанции на модели LLC при внутрибрюшинном введении показало преимущество лекарственной формы препарата в дозе 110 мг/кг. Лекарственная форма вызвала торможение роста опухоли на 74 % – 75 % в течение 8 дней после окончания лечения, а субстанция на 39 % – 8 %.

Изучение механизма противоопухолевого действия и выявление клеточных мишеней, наряду с основными критериями оценки противоопухолевой активности, – обязательное требование к доклиническому исследованию новых препаратов [1–3; 10]. Известно, что соединения класса N-гликозидов индолокарбазолов взаимодействуют с различными внутриклеточными мишенями: интеркалируют в ДНК, что приводит к изменению конформации и повреждению двойной спирали [17; 25–27; 29; 33]; снижают активность протеинкиназ: циклинзависимой киназы CDK-1, протеинкиназы C, топоизомераз. Эти мишени важны для индукции гибели клеток [9; 12; 15; 16; 20–22; 28; 30–32]. Кроме того, под действием производных индолокарбазола отмечена вакуолизация цитоплазмы, связанная с активацией вакуолярной АТФазы [14].

Цель настоящего исследования – продолжение доклинического изучения противоопухолевой активности производного N-гликозида индолокарбазола ЛХС-1208 на эпидермоидной карциноме легкого Lewis и изучение механизма его противоопухолевого действия.

Материалы и методы

Исследования *in vivo* проведены на модели эпидермоидной карциномы легкого мышей Lewis, полученной из Банка опухолевых штаммов ФГБУ «РОИЦ им. Н.Н. Блохина». В опытах использованы иммунокомпетентные мыши-самцы линии C57Bl/6j (доноры опухолевого материала) и гибриды первого поколения BDF₁ (C₅₇Bl/6j x DBA/2) массой 20 – 22 г. Мышей получали из питомника лабораторных животных «Столбовая» и содержали в конвенциональных условиях на брикетированном рационе кормления [4].

LLC перевивали животным по стандартной методике. При перевивке опухолевую ткань измельчали ножницами до гомогенной консистенции, добавляли среду 199 до соотношения 1:10 и 0,5 мл полученной суспензии (около 50 мг опухолевых клеток) вводили подкожно в область правой подмышечной впадины. Лечение начинали через 48 ч после перевивки [13].

Лекарственная форма ЛХС-1208 – лиофилизат для приготовления раствора для инъекций следующего состава: субстанция 9,2 мг; ДМСО 165 мг; Kollidon 17PF 600 мг.

Перед введением животным лиофилизат регидратировали в 2,8 мл воды для инъекций и вводили внутривенно однократно в дозах 125 мг/кг и 150 мг/кг.

Для оценки избирательности противоопухолевого действия ЛХС-1208 рассчитывали терапевтический индекс ТИ₅₀, как соотношение дозы, вызывающей гибель 50 % мышей, к эффективной дозе, вызывающей ТРО мышей также на 50 %. ЛХС-1208 вводили в диапазоне доз от 50 мг/кг до 170 мг/кг. Значение ТИ₅₀ для эффективных препаратов должно быть ≥ 2 [10].

В качестве препарата сравнения использовали ингибитор топоизомеразы I – коммерческий препарат иринотекан (Кампто, производитель: Пфайзер (Перт) Пти Лтд., Австралия) [5; 19; 23; 24].

Препарат вводили внутривенно трехкратно в дозе 40 мг/кг с интервалом 72 ч и однократно в дозе 66 мг/кг, то есть в эквивалентных дозах и режимах введения, которые применяются в клинике при монотерапии немелкоклеточного рака легкого [6; 11; 18].

Изучение эффективности ЛХС-1208 проводили также в комбинации с иринотеканом. Комбинанты вводили в дозах, составляющих 1/2 от терапевтической дозы препаратов. В качестве положительного контроля вводили ЛХС-1208 и иринотекан в терапевтических дозах, что позволяло при равном противоопухолевом эффекте в сравниваемых группах оценить терапевтический эффект комбинации (ЭК) [10]. Дозы и режимы введения указаны в табл. 2 и 4.

Опухоли измеряли каждые 3 – 4 дня в зависимости от скорости роста опухоли. Объем опухоли (V) вычисляли перемножением трех максимальных взаимно перпендикулярных размеров (длина *l*, ширина *b*, высота *h*) у каждого животного.

Критериями оценки противоопухолевой активности служили: ТРО, % и УПЖ, % опытных животных по сравнению с контрольными [10].

Торможение роста опухоли вычисляли по формуле:

$$TPO(\%) = \frac{(V_k - V_o)}{V_k} \times 100, \text{ где}$$

V_k – средний объем опухолей в контрольной группе (мм³),

V_o – средний объем опухолей в опытной группе (мм³).

Увеличение продолжительности жизни вычисляли по формуле:

$$УПЖ(\%) = \frac{(СПЖ_0 - СПЖ_к)}{СПЖ_к} \times 100, \text{ где}$$

СПЖ_к – средняя продолжительность жизни животных в контрольной группе (дни);

СПЖ₀ – средняя продолжительность жизни животных в опытной группе (дни).

Для изучения влияния ЛХС-1208 на метастазирование LLC в легкие, мышцей подвергали эктаназии на 30-й день после гибели 1-й мыши в контрольной группе и оценивали торможение роста метастазов по средней массе легких в опытных группах и контроле. Опухолевый узел удаляли на 9 день после перевивки LLC, препарат вводили на 10 день.

Критерием оценки способности ингибировать метастазирование в легкие служило торможение роста спонтанных метастазов (ТРМ, %) при подкожной перевивке LLC в присутствии первичного опухолевого узла и на фоне удаленной опухоли [7].

Торможение роста метастазов вычисляли по формуле:

$$ТРМ(\%) = \frac{(МЛ_к - МЛ_0)}{МЛ_к} \times 100, \text{ где}$$

МЛ_к – средняя масса легких животных в контрольной группе (мг);

МЛ₀ – средняя масса легких животных в опытной группе (мг).

Полученные данные обрабатывали статистически с использованием доверительных интервалов средних сравниваемых величин по стандартному методу Стьюдента. Для оценки достоверности различий определяли критерий Т (*t*-тест), значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Для изучения влияния ЛХС-1208 на каталитическую активность топоизомеразы I реакционную смесь, содержащую суперскрученную ДНК плазмиды pBR322 (ДНКсс; «Ферментас», Литва) инкубировали с 1 ЕД топоизомеразы I в отсутствие (контроль) и присутствии ЛХС-1208 (0,5-20 мкМ) при 37 °С в течение 30 мин. в буфере, содержащем 35 мМ Трис-НСI (рН 8,0), 72 мМ КСI, 5 мМ MgCl₂, 5 мМ дитиотрейтола, 2 мМ спермидина, 0,1 мг/мл бычьего сывороточного альбумина. Реакцию останавливали внесением додецилсульфата натрия (до 1%). Добавляли протеиназу К и инкубировали смесь 30 мин при 37 °С. Электрофорез ДНК проводили в 1% агарозном геле (состав буфера: 40 мМ Трис-основания, 1 мМ ЭДТА, 30 мМ ледяной уксусной кислоты); гели окрашивали раствором бромистого этидия и визуализировали в УФ-свете.

Взаимодействие ЛХС-1208 с ДНК изучали в присутствии 13,7 мкМ пар оснований ДНК тимуса телят (Sigma-Aldrich, США). Измерения проводили в растворе, содержащем 10 мМ фосфатного

буфера (рН 7,8) и 100 мМ NaCl, применяя метод спектрального анализа. Реагенты приобретали в компании Хеликон (Москва). По изменению спектров поглощения определяли взаимодействие исследуемого соединения с ДНК. Кроме того, исследовали концентрацию связанного и концентрацию не связавшегося (свободного) соединения. На основании этих данных строили изотерму связывания в координатах Скэтчарда. По полученным показателям судили о параметрах связывания молекул ЛХС-1208 с дуплексной ДНК.

Результаты и обсуждение

Изучение избирательности противоопухолевого действия ЛХС-1208 на LLC показало, что доза, вызывающая гибель 50 % мышей, составляла 170 мг/кг; доза, вызывающая ТРО ~50 %, составила 60 мг/кг (табл. 1). Терапевтический индекс $TI_{50} = 2,8$.

Данные, представленные в табл. 2, показывают, что ЛХС-1208 в дозе 150 мг/кг обладал более высоким противоопухолевым действием по сравнению с иринотеканом в дозе 66 мг/кг по длительности торможения роста LLC (ТРО=95 % – 52 % и ТРО=94 % – 27 % в течение 20 дней после окончания лечения соответственно). Иринотекан при трехкратном введении в дозе 40 мг/кг проявлял кратковременный и слабый противоопухолевый эффект (ТРО=61%).

Как видно из табл. 3, при сохраненном опухолевом узле ЛХС-1208 вызывал статистически значимое торможение роста метастазов LLC как в дозе 125 мг/кг, так и в терапевтической дозе 150 мг/кг: ТРМ 33% и 31 % соответственно. При введении ЛХС-1208 в тех же дозах после удаления первичного опухолевого узла препарат оказывал более высокий эффект по ТРМ: 45 % и 44 % соответственно. В то же время ТРМ, равное 30 % в группе с хирургическим удалением первичного опухолевого узла, оказалось статистически недостоверным по отношению к контролю.

Из данных табл. 4 следует, что комбинация ЛХС-1208 с иринотеканом на модели LLC проявляла длительную противоопухолевую активность в течение 20 дней после окончания лечения: ТРО=94 % – 51 %. В то же время ЛХС-1208 в дозе 75 мг/кг вызывал противоопухолевый эффект только в течение 9 дней (ТРО=82 % – 48 %), равный действию иринотекана в дозе 33 мг/кг в те же сроки наблюдения (ТРО=86 % – 52 %). Следовательно, комбинация ЛХС-1208 с иринотеканом в дозах, составляющих половину от терапевтической дозы комбинантов (75 мг/кг и 33 мг/кг), проявила синергический противоопухолевый эффект на LLC, то есть терапевтический эффект комбинации оказался меньше суммарного эффекта, но больше, чем при введении равных по эффекту комбинантов.

На рис. 1 приведена электрофореграмма продуктов релаксации ДНКсс под действием топоизомеразы I. В отсутствие ЛХС-1208 плазмиды pBR322 мигрирует в геле относительно быстро (трек ДНКсс).

Таблица 1

Избирательность противоопухолевого действия ЛХС-1208 на LLC при однократном внутривенном введении

№№ групп	Доза (мг/кг)	ТРО, %					Гибель от токсичности, %
		Дни после окончания лечения					
		5	8	12	15	19	
1	50	37	14	15	16	12	0
2	60	54	36	30	23	14	0
3	75	76	58	37	22	15	0
4	100	96*	68*	50*	38	21	0
5	150	99*	96*	64*	57*	50*	0
6	170	93*	91*	63*	57*	49*	50

*p<0,05 по отношению к контролю

Таблица 2

Сравнительное изучение противоопухолевой активности ЛХС-1208 и терапевтического действия иринотекана при в/в введении на LLC

Препарат	№№ групп	Доза(мг/кг)/интервал (час) × число введений	ТРО, %						УПЖ, %
			Дни после окончания лечения						
			5	8	12	15	20	25	
ЛХС-1208	1	150×1	95**	74	64*	50*	52*	43	20
	2	155×1	97	91	74	59	40	41	15
Ирино-текан	3	40/72×3	61**	30	9	2	8	6	14
	4	66×1	94	73	44*	31*	27*	28	15

*p<0,05 между группами 1 и 4;

**p<0,05 между группами 1 и 3.

Таблица 3

Изучение влияния ЛХС-1208 на метастазирование LLC в легкие при однократном в/в введении

Группа	Доза, мг/кг	Масса тела, г		Масса легких, мг	ТРМ, %
		Исходная	После эвтаназии		
Контроль	–	24,6±2,1	29,3±2,4	447,9±148,9	–
Хирургическое удаление опухоли	–	25,5±1,8	23,9±2,3	314,1±102,7	30
ЛХС-1208	125	24,1±2,5	26,1±6,3	298,3±66,8	33*
	150	25,3±2,4	26,2±5,0	310,4±88,5	31*
Удаление опухоли + ЛХС-1208	125	24,0±1,4	24,1±4,0	247,5±39,8	45*
	150	25,2±1,9	23,8±2,5	252,6±49,8	44*

*p<0,05 по отношению к контролю

Таблица 4

Изучение эффективности ЛХС-1208 в комбинации с иринотеканом на LLC при однократном внутривенном введении

Группа	№№ групп	Доза, мг/кг	ТРО, %						УПЖ, %
			Дни после окончания лечения						
			5	9	13	16	20	23	
ЛХС-1208	1	75	82*	48*	35*	27*	36*	17	17
	2	150	92	66	56	57	50	36	13
Иринотекан	3	33	86*	52*	33*	27*	28*	21	14
	4	66	93	80	53	48	43	28	14
ЛХС-1208 + иринотекан	5	75 + 33	94*	85*	59*	54*	51*	35	17

*p<0,05 – различия достоверны между группами 5 и 1; 5 и 3

В присутствии ЛХС-1208 плазмидная ДНК изменяет конформацию: релаксирует с образованием набора топоизомеров, мигрирующих в геле медленнее ДНКсс (трек Топо I). С увеличением концентрации ЛХС-1208 количество медленно мигрирующих (релаксированных) молекул ДНК уменьшается, что свидетельствует о частичном торможении релаксации ДНК. При концентрациях ЛХС-1208 >5 мкМ актив-

ность топоизомеразы I ингибирована: присутствует только конформация ДНКсс. Как видно из рис. 2, при взаимодействии с двухцепочечной ДНК изменяются спектры поглощения ЛХС-1208 (сплошная линия – 1 мкМ свободного ЛХС-1208, пунктирная – в присутствии 13,7 мкМ пар оснований ДНК). Такой характер спектров характерен для интеркаляционного типа комплексов низкомолекулярных соединений с ДНК.

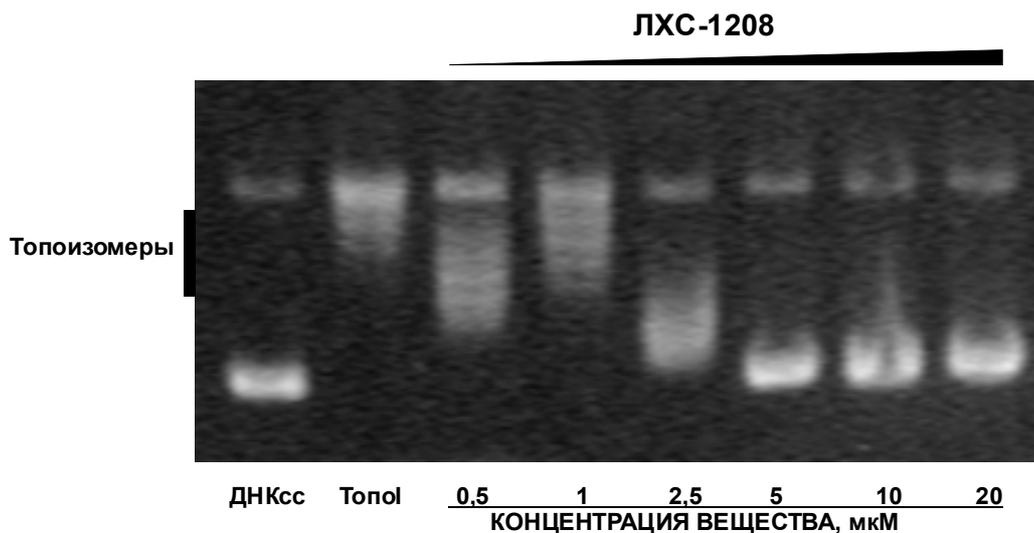


Рис. 1. Влияние ЛХС-1208 на релаксацию плазмидной ДНК, опосредованную топоизомеразой I. Сокращения и пояснения – в тексте.

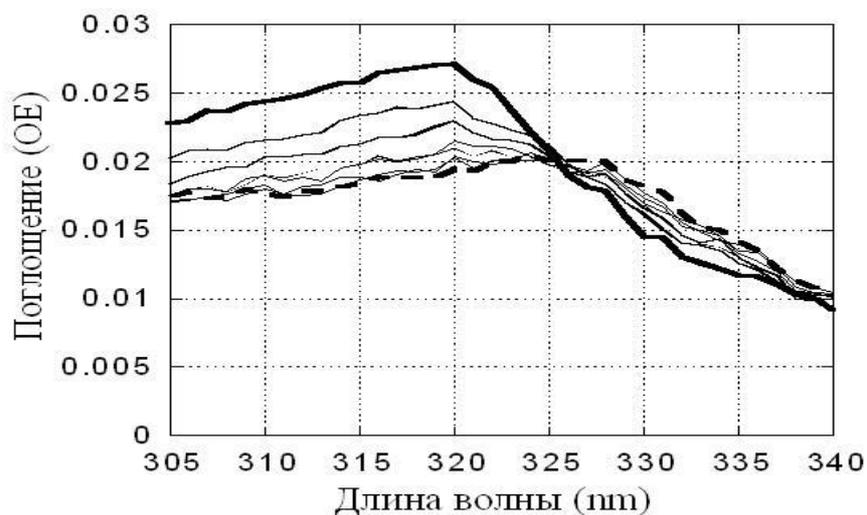


Рис. 2. Взаимодействие ЛХС-1208 с дуплексной ДНК.

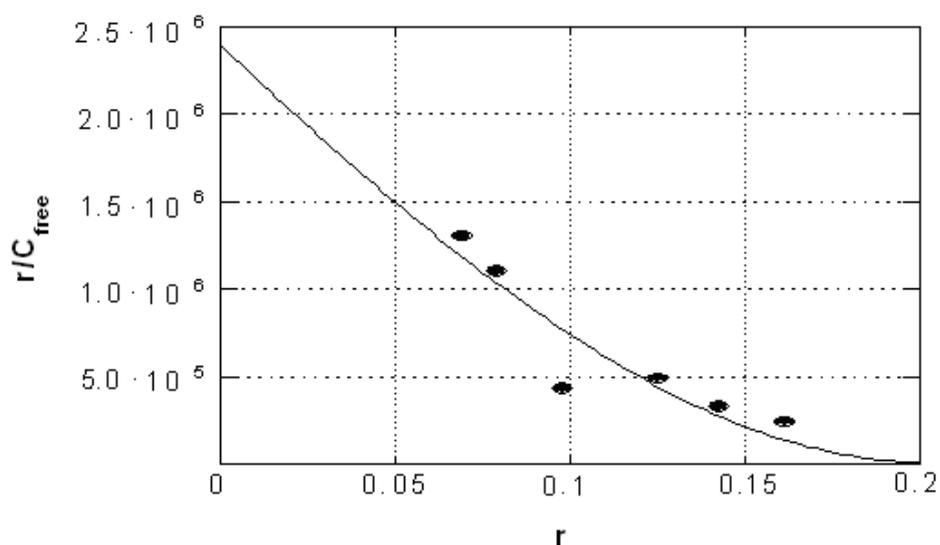


Рис. 3. Изотерма связывания ЛХС-1208 с дуплексной ДНК:

По оси абсцисс – среднее количество молекул ЛХС-1208 (r) на один нуклеотид; по оси ординат – соотношение среднего количества молекул ЛХС-1208 к концентрации несвязанного ЛХС-1208 (r/C_{free}).

По концентрациям связанного и свободного ЛХС-1208 построена изотерма связывания ЛХС-1208 с ДНК в координатах Скэтчарда (рис. 3), аппроксимированная уравнением МакГи-фон Хиппеля. Установлены параметры связывания: $K=(2,4\pm 0,5)\times 10^6 \text{ M}^{-1}$, $n=4,5\pm 0,5$. Последний показатель означает, что одна молекула ЛХС-1208 занимает участок в дуплексе ДНК, соответствующий 4–5 нуклеотидным остаткам.

Заключение

В результате исследований противоопухолевого эффекта производного N-гликозида индолокарбазола ЛХС-1208 в широком диапазоне доз от 50 мг/кг до 170 мг/кг на модели LLC показана избирательность противоопухолевого действия: терапевтический индекс $TI_{50} = 2,8$.

При сравнительном изучении противоопухолевого эффекта ЛХС-1208 и иринотекана при однократном внутривенном введении в терапевтических дозах 150 мг/кг и 66 мг/кг соответственно, установлено, что ЛХС-1208 достоверно превосходит действие иринотекана по длительности торможения роста LLC: ТРО=95 % – 52 % и ТРО=94 % – 27 % в течение 20 дней после окончания лечения соответственно.

При оценке действия на метастазирование LLC в легкие мышей установлено, что ЛХС-1208 (125 мг/кг и 150 мг/кг, однократное внутривенное введение) при сохраненном опухолевом узле вызы-

вает статистически значимое ТРМ, равное 33 % и 31 % соответственно, и, следовательно, перспективен для неoadьювантной химиотерапии. При введении ЛХС-1208 в тех же дозах после удаления опухолевого узла ТРМ составляет 45 % и 44 % соответственно. Возможно, применение ЛХС-1208 для адьювантной химиотерапии окажется более эффективным.

Комбинация ЛХС-1208 с иринотеканом в дозах, составляющих половину от терапевтической дозы комбинантов (75 мг/кг и 33 мг/кг соответственно), проявляет синергический противоопухолевый эффект на модели LLC: результат применения комбинации меньше суммарного эффекта, но больше, чем при введении равных по эффекту комбинантов. Можно предположить, что введение ЛХС-1208 с иринотеканом в меньших, чем при монотерапии, дозах не приведет к суммации побочных эффектов.

Соединение ЛХС-1208 интеркалирует в двухцепочечную ДНК с образованием высокоаффинных комплексов. Одна молекула ЛХС-1208 занимает участок, соответствующий 4–5 нуклеотидным остаткам. Вызываемые комплексобразованием нарушения конформации двойной спирали нарушают матричные синтезы. Действительно, ЛХС-1208 в микромолярных концентрациях ингибирует топоизомеразу I. Таким образом, установлены мишени и молекулярные механизмы, обуславливающие противоопухолевую эффективность производного N-гликозида индолокарбазола ЛХС-1208.

Литература

1. Барышникова М.А., Барышников А.Ю. Иммунолипосомы и мишени их действия // Российский химический журнал. Журнал Российского химического общества им. Д.И. Менделеева. – 2012. – Т. LVI, № 3–4. – С. 60–7.
2. Блохин Д.Ю., Чмутин Е.Ф., Иванов П.К. Молекулярные мишени для противоопухолевой терапии: факторы роста, ангиогенеза, апоптоза // Российский биотерапевтический журнал. – 2011. – Т. 10, № 3. – С. 25–30.
3. Блохин Д.Ю., Чмутин Е.Ф., Иванов П.К. Молекулярные мишени для противоопухолевой терапии: пути передачи сигнала и эпигенетические модуляторы // Российский биотерапевтический журнал. – 2011. – Т. 10, № 4. – С. 81–8.
4. Большаков О.П., Незнанов Н.Г., Бабаханян Р.В. Дидактические и этические аспекты проведения исследований на биомоделях и на лабораторных животных // Качественная клиническая практика. – 2002. – С. 1–53.
5. Борисов К.Е. Место ингибиторов топоизомеразы I в лечении мелкоклеточного рака легкого (обзор) // Онкология. Журнал имени П.А. Герцена. – 2014. – № 3. – С. 88–96.
6. Гарин А.М., Базин И.С. Кампто (иринотекан) препарат с широким спектром противоопухолевого действия // Фарматека. – 2002. – Т. 63, №12. – С. 9.
7. Зуева Е.П., Козлов А.М., Герасимова Г.К. и др. Методические указания по доклиническому изучению средств, обладающих способностью ингибировать процесс метастазирования и повышать эффективность цитостатической терапии злокачественных опухолей. В кн.: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ под общей ред. член-корр. РАМН проф. Р.У. Хабриева. – 2 изд., переработанное и доп.- М.: ОАО изд. «Медицина», 2005. – С. 674–82.
8. Киселева М.П., Шпрах З.С., Борисова Л.М. и др. Доклиническое изучение противоопухолевой активности производного N-гликозида индолокарбазола ЛХС-1208. Сообщение I // Российский биотерапевтический журнал. – 2015. – Т. 14, № 2. – С. 71–7.
9. Киселева М.П., Шпрах З.С., Деженкова Л.Г. и др. Действие производного индолокарбазолов ЛХС-1208 на топоизомеразу I // Материалы XII Всероссийской научно-практической конференции с меж-

- дународным участием «Отечественные противоопухолевые препараты» Москва, 31 марта – 1 апреля 2015 г. Российский биотерапевтический журнал. – 2015. – Т. 14, № 1. – С. 89.
10. Методические рекомендации по доклиническому изучению противоопухолевой активности лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. – С. 640–54.
 11. *Переводчикова Н.И., Горбунова В.А.* (ред.) Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. М.: Практическая медицина, 2015. – 686 с.
 12. *Смирнова З.С., Борисова Л.М., Киселева М.П. и др.* Поиск ингибиторов топоизомераз I и /или II среди N- гликозидов производных индоло [2,3-а] карбазолов для лечения злокачественных опухолей // «Результаты фундаментальных и прикладных исследований для создания новых лекарственных средств». Материалы симпозиума. Москва, 9 – 11 июня 2008 г. - М.: Фирма «Слово», 2008. – С. 191–2.
 13. *Софьина З.П., Сыркин А.Б. (СССР), Голдин А., Кляйн А. (США)* (ред.). Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США. – М.: Медицина, 1980. – С. 71–112.
 14. *Татарский В.В.* Механизмы гибели опухолевых клеток при действии новых углеводных производных индолокарбазолов. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – М., 2010. – 108 с.
 15. *CHAMPOUX J.J.* DNA TOPOISOMERASES: STRUCTURE, FUNCTION, AND MECHANISM // *ANNU. REV. BIOCHEM.* – 2001. – 70. – P. 369–413.
 16. *Chillemi G., Fioranil P., Benedetti P. et al.* Protein concerted motions in the DNA-human topoisomerase I complex // *Nucleic Acids Res.* – 2003. – 31. – P. 1525–35.
 17. *Denny W.A.* Emerging DNA topoisomerase inhibitors as anticancer drugs // *Expert Opin. Emerg. Drugs.* – 2004. – 9. – P. 105–33.
 18. *Fukuoka M., Negoro S., Masuda N. et al.* Final results of phase III study of irinotecan (CPT-11) plus cisplatin versus vindesine plus cisplatin versus CPT-11 alone in advanced non-small cell lung cancer. Program and abstracts of the 25th Congress of the European Society for Medical Oncology; October 13-17, 2000; Hamburg, Germany. Abstract 485.
 19. *Garcia-Carbonero R., Supko J.G.* Current perspectives on the clinical experience, pharmacology, and continued development of the camptothecins // *Clinical Cancer Research.* – 2002. – 8. – P. 641–61.
 20. *Gupta M., Fujimori A., Pommier Y.* Eukaryotic DNA topoisomerases I // *Biochem. Biophys. Acta.* – 1995. – 1262. – P. 1–14.
 21. *Kaufmann S.* DNA topoisomerases in chemotherapy // *Cancer Cells.* – 1991. – 3. – P. 24–7.
 22. *Liu L.F.* DNA topoisomerase poisons as antitumor drugs // *Ann. Rev. Biochem.* – 1989. – 58. – P. 351–75.
 23. *Mathijssen R.H.J., Loos W.J., Verweij J. et al.* Pharmacology of topoisomerase I inhibitors Irinotecan (CPT-11) and topotecan // *Current Cancer Drug Targets* – 2002. – 2. – P. 103–23.
 24. *Meng L.-H., Liao Z.-Y., Pommier Y.* Non-camptothecin DNA topoisomerase I inhibitors in cancer therapy // *Current Topics in Medicinal Chem.* – 2003. – 3(3). – P. 305–20.
 25. *Pabo C.O., Sauer R.T.* Transcription factors: structural families and principles of DNA recognition // *Annu. Rev. Biochem.* – 1992. – 61. – P. 1053–95.
 26. *Perini R., Caserta M., Di Mauro E.* DNA tridimensional context affects the reactivity of eukaryotic DNA topoisomerase I // *J. Mol. Biol.* – 1993. – 231. – P. 634–45.
 27. *Pommier Y., Pourquier P., Fan Y. et al.* Mechanism of action of eukaryotic DNA topoisomerase I and drugs targeted to the enzyme // *Biochem. Biophys. Acta* – 1998. – 1400. – P. 83–106.
 28. *STEWART L., IRETON G.C., CHAMPOUX J.J.* THE DOMAIN ORGANIZATION OF HUMAN TOPOISOMERASE I // *J. BIOL. CHEM.* – 1996. – 271. – P. 7602–8.
 29. *Streltsov S.A., Grokhovskii S.L., Kudelina I.A. et al.* The behavior of the DNA topoisomerase I Inhibitor in aqueous solution // *J. Biomol. Struct.Dyn.* – 2001. – 18(6). – P. 913–4.
 30. *WANG J.C.* CELLULAR ROLES OF DNA TOPOISOMERASES: A MOLECULAR PERSPECTIVE // *NATURE.* – 2002. – 3. – P. 430–40.
 31. *Wong R.S.* Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment // *J. Exp Clin Cancer Res.* – 2011. – 26. – P. 30–87.
 32. *Yamashita Y., Fujii N., Murakata C. et al.* Induction of mammalian DNA topoisomerase I mediated DNA cleavage by antitumor indolocarbazole derivatives // *Biochemistry.* – 1992. – 31. – P. 12069–75.
 33. *Zimmer C., Wahnert U.* Nonintercalating DNA-binding ligands: specificity of the interaction and their use as tools in biophysical, biochemical and biological investigations of the genetic material // *Prog. Biophys. Mol. Biol.* – 1986. – 47. – P. 31–112.

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

Т.Н. Богатыренко¹, З.В. Куроптева², Л.Н. Байдер², Т.Е. Сашенкова¹, Д.В. Мищенко¹, Н.П. Коновалова²

ЭКЗО- И ЭНДОГЕННЫЕ ИСТОЧНИКИ NO ПРИ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ ЦИТОСТАТИКОВ

¹ИПХФРАН, Черноголовка

²ИБХФ РАН, Москва

Актуальность. Парадоксальная дихотомия воздействия NO – в зависимости от его концентрации в организме приводящая либо к терапевтическому эффекту, либо к канцерогенезу была положена в основу настоящей работы.

Задача исследования. Изучить влияние экзогенных (нитрат натрия в разных концентрациях – 40 мг/кг, 30 мг/кг, 15 мг/кг) и эндогенных (аскорбиновая кислота – 15 мг/кг) источников NO в зависимости от их концентрации в организме на химиотерапевтическое действие цитостатиков: цисплатина (сPt) циклофосфана (ЦФ).

Материалы и методы представлены в статье [Т.Н.Богатыренко и др. Вопросы онкологии, 2013, 1, с94-99].

Результаты. Было показано, что добавление через 4 часа аскорбиновой кислоты (АК) к лечению сPt и ЦФ увеличивает СПЖ (среднюю продолжительность жизни) на 20–30 % по сравнению с монотерапией цитостатиками. Композиции NaNO₃ с цитостатиками увеличивают СПЖ на 26 %, 38 %, 4 % в зависимости от концентрации вводимого NaNO₃. Добавление к этим композициям АК изменяло СПЖ от увеличения на 16 % до ингибирования на 40 %.

Выводы. Изменение количества экзогенно вводимого NaNO₃, являющегося донором NO, в сочетании с эндогенным NO, индуцированным в организме АК, коррелирует с изменением активности исследуемых цитостатиков.

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

Т ЛИМФОЦИТЫ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ ПРИ ВАКЦИНОТЕРАПИИ

ФГБНУ «РОИЦ им. Н.Н. Блохина», Москва

Целью данной работы было выявить значение количественного нарушения Т лимфоцитов (CD3+CD19-CD16-) у онкологических больных до вакцинотерапии.

Материалы и методы. Был изучен иммунофенотип лимфоцитов периферической крови 30 больных диссеминированной меланомой кожи без клинических признаков заболевания (после хирургического удаления опухоли) до начала вакцинотерапии аутологичными дендритными клетками и 20 здоровых доноров. Иммунофенотип лимфоцитов оценивали методом многоцветной проточной цитометрии.

Результаты. По данным иммунологического исследования больные были разделены на группы: две равные (по 14 пациентов) – с нормальным количеством Т-лимфоцитов 67,6%±6,1% и со сниженным – 46,6%±6,9%, и только у двух больных количество Т клеток до начала терапии было выше показателей нормы (84,8% и 81,9%). Интересным оказалось то, что на фоне проводимой терапии у всех больных с исходно низким количеством Т-клеток отмечалось прогрессирование основного заболевания. А в группе с нормальным содержанием Т-лимфоцитов только 9 пациентов на фоне вакцинотерапии оставались в ремиссии. При этом у 5 больных, несмотря на исходно нормально количество этих клеток, на фоне терапии отмечалось прогрессирование. Из двух больных с высоким количеством Т-лимфоцитов до начала лечения у одного выявлено прогрессирование заболевания, а другой оставался в ремиссии. Следует отметить, что в группе больных с низким содержанием Т-клеток отмечается еще одно нарушение, снижение иммунорегуляторного индекса – ИРИ (0,9±0,3). В группе больных с нормальным содержанием Т-клеток и безрецидивным течением заболевания, соотношение субпопуляций CD4+ и CD8+ лимфоцитов (ИРИ) также оставалось в пределах нормы (1,3±0,3), а у больных с прогрессированием показатель CD4+/CD8+ был снижен (0,9±0,3).

Выводы. Выявленная корреляция между низким количеством Т-лимфоцитов в периферической крови больных и прогрессированием основного заболевания на фоне вакцинотерапии позволяет рассматривать низкий уровень Т-клеток как фактор неблагоприятного прогноза, а в сочетании с низким значением ИРИ может служить противопоказанием для вакцинотерапии. Безрецидивное течение заболевания в процессе вакцинотерапии наблюдалось у больных не имеющих нарушений ни в количестве Т-клеток ни в соотношении субпопуляций CD4+ и CD8+ лимфоцитов.