

на растворяли в 5 мл диметилформамида (ДМФА). На линию старта хроматографической пластины наносили по 5 мкл раствора препарата и растворов веществ-свидетелей (ЛХС-1208 и модельной смеси ЛФ, состоящей из ЛХС-1208 и повидона) в ДМФА. Пластины с нанесенными пробами подсушивали на воздухе в течение 30 мин, помещали в хроматографическую камеру со смесью растворителей и хроматографировали восходящим способом. Пластины подсушивали на воздухе до полного исчезновения запаха растворителей. Полученные хроматограммы не требовали дополнительной обработки какими-либо проявителями, поскольку активное вещество имеет интенсивную окраску. Хроматограмму оценивали по положению, совокупности величины и интенсивности окраски пятен ЛХС-1208 в пробе испытуемого раствора и пробах стандартных растворов.

Результаты. Из нескольких систем растворителей экспериментально была выбрана система бензол – спирт этиловый (1:1). Присутствие значительного количества повидона в единице ЛФ по сравнению с количеством основного вещества (600 и 9 мг соответственно) затрудняет разделение компонентов ЛФ, поэтому для более правильной идентификации активного вещества на пластины в качестве стандартных образцов веществ-свидетелей было предложено наносить пробы растворов в ДМФА субстанции ЛХС-1208 и модельной смеси ЛФ. При просмотре хроматограмм в ультрафиолетовом свете в пробах ЛФ и модельной смеси помимо пятна ЛХС-1208 наблюдалось хорошо очерченное пятно на старте, соответствующее повидону.

Заключение. Проведены исследования для идентификации ЛХС-1208 методом ТСХ, по результатам которых подобран состав подвижной фазы.

Работа выполнена в рамках Государственного контракта № 13411.1008799.13.20 от 24.06.2013 «Доклинические исследования инновационного лекарственного средства на основе производного индолокарбазола для лечения онкологических заболеваний».

*Н.Н. Гурина¹, Т.Ю. Егорова¹, С.Г. Фомина¹,
Д.В. Новиков¹, Н.В. Красногорова¹, А.Д. Перенков¹,
А.В. Калугин¹, А.Ю. Барышников², В.В. Новиков¹*
**ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ
ФОРМ мРНК MUC1 В ОПУХОЛЕВЫХ ОЧАГАХ
МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

¹ФГАОУ ВО «ННГУ им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород;

²ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Ген *MUC1* экспрессируется в эпителиальных клетках. В раковых клетках происходят транскрипционные и посттранскрипционные изменения *MUC1*, приводящие к метаболическому перепрограммированию клетки. В настоящее время описано образование 78 изоформ в результате сплайсинга мРНК *MUC1*. Наиболее часто обнаруживаются изоформы с выпадением региона тандемных повторов (*MUC1*-X, – Y, – Z) и изоформа без трансмембранного региона (*MUC1*-Seq). К настоящему моменту функциональное значение изоформ *MUC1* остается неизученным. Однако известно, что повышенная экспрессия *MUC1*-Seq и *MUC1*-Y регистрируется при воспалении слюнных и слезных желез.

Цель исследования – изучение связи экспрессии альтернативных форм мРНК *MUC1* в опухолевых очагах рака

молочной железы (РМЖ) с маркером воспаления интерлейкином-32 (ИЛ-32).

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили 40 образцов опухолевых очагов от больных РМЖ. Материалы предоставлены РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) выявляли 3 группы изоформ мРНК *MUC1* с использованием специфичных праймеров. В 1-ю группу входили изоформы с добавлением лишних аминокислот в N-терминальную часть белка (*MUC1*-A, *MUC1*-B, *MUC1*-C, *MUC1*-D); 2-я группа содержала изоформы с выпадением аминокислот из региона тандемных повторов (*MUC1*-X, *MUC1*-Y, *MUC1*-Z); 3-я группа – изоформу без трансмембранного региона (*MUC1*-Seq) и классическую форму мРНК (*MUC1*-Rep). Результаты реакции оценивали электрофорезом нуклеиновых кислот в агарозном геле в присутствии бромида этидия. Уровень мРНК ИЛ-32 оценивали методом ОТ-ПЦР в реальном времени относительно мРНК β2-микроглобулина.

Результаты. Экспрессия альтернативных форм мРНК *MUC1* 1-й группы наблюдалась в 84 % образцов (27 из 32), 2-й группы – в 25 % образцов (8 из 32), экспрессия мРНК *MUC1*-Rep регистрировалась в 62,5 % образцов (20 из 32), а мРНК *MUC1*-Seq – во всех исследованных образцах. Ранее нами было установлено, что экспрессия мРНК *MUC1* в опухолевых очагах РМЖ коррелирует с экспрессией ИЛ-32. При сравнении частот обнаружения изоформ мРНК *MUC1* с уровнями мРНК ИЛ-32 показано, что при РМЖ не наблюдается зависимости между экспрессией изоформ мРНК *MUC1* и изменением уровня мРНК ИЛ-32.

Заключение. Таким образом, в клетках опухолей молочной железы воспалительные процессы, опосредованные ИЛ-32, не связаны с экспрессией исследуемых альтернативных форм мРНК *MUC1*.

*И.В. Гусев¹, В.П. Сокуренок², Е.А. Маслюкова²,
А.В. Мешечкин², М.А. Коровина¹, Л.И. Корытова²,
Н.Д. Олтаржевская¹*

**ПРИМЕНЕНИЕ СТРУКТУРИРОВАННЫХ
ГИДРОГЕЛЕВЫХ МАТЕРИАЛОВ «КОЛЕГЕЛЬ-ДИСК»
ДЛЯ НАПРАВЛЕННОГО ТРАНСПОРТА
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ
ПРИ ХИМИОЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ**

¹ООО «КОЛТЕКС», Москва;

²ФГБУ РНЦРХТ Минздрава России, Санкт-Петербург

Введение. Получены высокоструктурированные гидрогелевые диски «Колегель-диск» на основе биополимера-радиопротектора альгината натрия с различными препаратами (цитостатические, радиомодифицирующие (5-фторурацил), антисептические (диоксидин, деринат) и др.) для направленного подведения к очагу поражения у онкологических больных.

Цель исследования – применение гидрогелевых материалов «Колегель-диск» для направленного подведения введенных в них препаратов к очагу поражения у онкологических больных при химиолучевой терапии для уменьшения резорбции опухоли и в качестве материалов сопровождения для улучшения качества жизни больных и снижения нежелательных побочных эффектов лечения.

Материалы и методы. «Колегель-диск» требуемого объема и концентрации лекарственного препарата применялись в группе из 38 пациентов: 19 — с диагнозом рак прямой кишки (РПК), 10 — рак молочной железы (РМЖ), 9 — рак дна полости рта. У пациентов с РПК проводилась неoadъювантная лучевая терапия (ЛТ). Больному ректально вводили диск с 5-фторурацилом с экспозицией до 6–8 ч 1–2 раза в сутки (утром и за час до сна). При комбинированном лечении РМЖ применялись диски с 5-фторурацилом в сочетании с облучением в режиме среднего фракционирования. Диск с препаратом накладывался на поверхность опухолевой язвы за 3 сут до начала ЛТ, а далее ежедневно с 1-го дня ЛТ утром и вечером. В случае рака дна полости рта диски применялись ежедневно с 1-го дня ЛТ за 30–40 мин до сеанса облучения и 1–2 раза в день после сеанса ЛТ. При наличии лучевой реакции со стороны слизистой оболочки полости рта в процессе и по окончании ЛТ (в постлучевом периоде) использовались диски с прополисом 2–3 раза в день в течение 1 мес.

Результаты. У всех больных РПК токсические эффекты были минимальны и купировались традиционными методами без осложнений. При применении дисков в лечении РМЖ удалось добиться уменьшения признаков интоксикации и количества отделяемого из язвы, причем результат достигнут при значительно меньших дозах химиопрепарата, нежели при стандартном лечении. Эффективность комбинированного лечения доказана по следующим критериям: локальный контроль опухоли, анализ токсичности и непосредственный эффект. У всех пациентов при раке дна полости рта наблюдалось полное заживление опухолевых язв, что позволило в дальнейшем перейти к традиционной химиотерапии.

Заключение. Использование структурированных дисков «Колегель-диск» в группах пациентов с РПК и РМЖ при агрессивной предоперационной химиолучевой терапии обеспечило усиление степени резорбции опухоли при меньших суммарных дозах 5-фторурацила, снижение общей токсичности лечения и возможность выполнения 2-го этапа лечения (операции) в запланированный срок.

*С.В. Гусельников, С.В. Кулемзин, А.А. Горчаков,
О.Ю. Волкова, А.В. Таранин*

БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АФФИННЫЕ БЕЛКИ НА ОСНОВЕ ДИВЕРСИФИЦИРОВАННОГО FN3 ДОМЕНА

ФГБУН ИМКБ СО РАН, Новосибирск

Введение. Создание мультифункциональных антител для иммунотерапии рака является одним из наиболее приоритетных направлений развития медицинской биотехнологии. Агенты, способные распознавать 2 и более мишеней, необходимы для увеличения избирательности противоракового воздействия, для блокирования роста раковых клеток с помощью одновременного воздействия на разные сигнальные пути, для перенацеливания собственных цитотоксических клеток организма. К настоящему времени разработан широкий ряд полиспецифических молекул на основе классических моноклональных антител. Параллельно идет активный поиск и испытание альтернативных антигенраспознающих доменов для конструирования

нового поколения иммунотерапевтических молекул с улучшенными свойствами. Аффинные белки на основе диверсифицированного 10-го домена фибронектина человека 10FnIII (Fn3) являются одной из наиболее перспективных альтернатив классическим антителам. Укладку Fn3-домена отличают компактность, отсутствие гликозилирования, дисульфидных связей, высокая термостабильность и низкая иммуногенность. Тот факт, что в природе такие домены образуют мультидоменные белковые цепи, предполагает возможность создания мультифункциональных терапевтических молекул с помощью последовательного соединения аффинных Fn3-доменов разной специфичности.

Цель исследования — определить свойства двухдоменных белков, сконструированных на основе Fn3-доменов разной специфичности.

Материалы и методы. С помощью методов молекулярного клонирования получены двухдоменные белки различной архитектуры, содержащие Fn3-домены, распознающие белки человека VEGFR2 и CEA. Полученные белки содержат междоменный линкер (SGGG) 2SGG и С-концевые Strep-, FLAG- и 6xHis-эпитопы. Способность Fn3-белков связывать мишени в растворе и на поверхности клеток оценена с помощью иммуоферментного анализа и проточной цитометрии.

Результаты. Показано, что белки, состоящие из tandemно соединенных VEGFR2- и CEA-связывающих Fn3-доменов, обладают биспецифичностью. Связывающие свойства обоих доменов не зависят от их положения на N- или С-конце.

Заключение. Тандемное соединение Fn3-доменов разной специфичности может быть использовано для создания бифункциональных аффинных белков. Полученные результаты послужат основой конструирования трех- и четырехдоменных мультифункциональных Fn3-агентов для использования в иммунотерапевтических целях.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований по теме 0310-2015-0006 в части молекулярного клонирования и гранта РФФИ № 16-04-01469-а в части анализа белок-белковых взаимодействий.

А.К. Даиров, С.М. Адекенов

ВЛИЯНИЕ ГИДРОХЛОРИДА 1(10)β-ЭПОКСИ- 13-ДИМЕТИЛАМИНО-5,7α,6,11β(Н)-ГВАЙ-3(4),11(13)- ДИЕН-6,12-ОЛИДА НА ГЛИОМУ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ЕГО ФАРМАКОКИНЕТИКА

*АО МНПХ «Фитохимия», Караганда,
Республика Казахстан*

Введение. В настоящее время смертность от онкологических заболеваний по частоте находится на 2-м месте после сердечно-сосудистых заболеваний, поэтому лечение рака любой локализации является важной проблемой современной медицины. В частности, имеющая нейроэктодермальное происхождение глиома головного мозга является самой распространенной группой первичных опухолей головного мозга, их доля от всех первичных внутричерепных новообразований у взрослых составляет более 58 %.

Цель исследования — определить влияние гидрохлорида 1(10)β-эпоксид-13-диметиламино-5,7α,6,11β(Н)-гвай-3(4),