

в плазме крови отмечен рост уровня КРФ на 80 %. Содержание внеклеточной РНК в эритроцитах больных РМЖ имеет незначительно выраженную тенденцию к снижению, а уровень внеклеточной ДНК в эритроцитах крови больных сравним с показателем контроля. Монотерапия арглабином способствует более отчетливой нормализации содержания внеклеточных РНК и ДНК в эритроцитах крови больных.

Заключение. У больных МРРМЖ II–III стадии до начала химиотерапии отмечено резкое снижение внеклеточных нуклеиновых кислот и КРФ; монотерапия арглабином сопровождается ростом изучаемых показателей по сравнению с величинами до лечения.

*Т.Н. Заботина, О.В. Короткова, А.А. Борунова,
Д.В. Табаков, Ш.Г. Хакимова, М.В. Савостикова,
И.К. Воротников, З.Г. Кадагидзе*

ИММУНОФЕНОТИП ЛИНЕЙНЫХ И МИНОРНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ, ИНФИЛЬТРИРУЮЩИХ ОПУХОЛЬ, У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва

Введение. Степень инфильтрации опухоли лимфоцитами сегодня рассматривается как благоприятный прогностический фактор эффективного ответа на проводимое лечение и общей выживаемости больных раком молочной железы (РМЖ), однако их роль в патогенезе рака до сих пор неизвестна.

Цель исследования — провести исследование иммунофенотипа лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль, у первично-операбельных больных РМЖ.

Материалы и методы. Исследованы образцы опухолевой ткани 59 первично-операбельных больных РМЖ. Клеточные суспензии получали путем фрагментации ткани опухолей с использованием Medimachine (BD Biosciences), конгломераты удаляли фильтрацией Filcons, диаметр пор не превышал 50 мкм. Все полученные образцы подвергали цитоморфологическому контролю (цитопрепарат Cytospin, окраска по Лейшману, $\times 400$), оценивали количество и качество опухолевых клеток, наличие лимфоидных элементов. Структуру субпопуляций клеток оценивали по связыванию с моноклональными антителами различной специфичности методом многопараметровой проточной цитометрии.

Результаты. При оценке степени инфильтрации опухолевых образцов лимфоцитами установлено, что лимфоидные CD45⁺-клетки выявлялись в 100 % случаев методом проточной цитометрии, в то время как при морфологическом исследовании в ряде случаев лимфоидные элементы не были обнаружены. Содержание CD45⁺-лимфоцитов в полученных суспензиях сильно варьировало — от 0,1 до 28 %, среднее значение составило $3,9 \pm 0,7$ % ($M \pm m$). Анализ частоты встречаемости образцов опухоли РМЖ с различной степенью инфильтрации показал, что в 50 % случаев содержание CD45⁺-клеток составило 1,1–9,0 %, в 36,3 % случаев оно оказалось менее 1 %, а в 13,7 % образцов ткани РМЖ количество CD45⁺-клеток было 10–28 %. Следует заметить, что линейная структура лимфоцитов

(Т-В-NK) не зависела от общего содержания лимфоидных клеток в ткани опухоли и составила в среднем по группе $86,8 \pm 1,8$ % Т-клеток с фенотипом CD45⁺CD3⁺CD19⁻; $3,29 \pm 0,7$ % В-клеток с фенотипом CD45⁺CD3⁻CD19⁺ и $1,2 \pm 0,2$ % NK-клеток с фенотипом CD45⁺CD3⁻CD16⁺CD56⁺. В структуре CD45⁺CD3⁺ Т-клеток соотношение CD4⁺ и CD8⁺ составило $1,3 \pm 0,1$. Эффекторное звено представлено специфическими CD3⁺CD8⁺ цитотоксическими Т-лимфоцитами ($41,6 \pm 1,8$ %). При 4-цветном анализе фенотипа функционально значимых минорных субпопуляций оказалось, что более половины ($54,0 \pm 3,5$ %) CD8⁺ клеток имеют регуляторный фенотип CD45⁺CD8⁺CD11b⁻CD28⁻, в то время как регуляторные CD4-лимфоциты (CD45⁺CD4⁺CD25^{high}CD127^{low/neg}) составляют только $12,8 \pm 1,5$ %.

Заключение. Иммунофенотип лимфоцитов, инфильтрирующих ткань РМЖ, не зависит от степени инфильтрации опухоли. В структуре лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль, преобладают CD3⁺ Т-лимфоциты, соотношение CD4/CD8 составляет $1,3 \pm 0,1$, фенотип эффекторных клеток соответствует цитотоксическим Т-лимфоцитам, регуляторные клетки представлены CD45⁺CD8⁺CD11b⁻CD28⁻ лимфоцитами, но не CD45⁺CD4⁺CD25^{high}CD127^{low/neg}.

*М.П. Завелевич¹, А.А. Фильченков¹, С.Д. Завгородняя²,
О.А. Ковалева¹, Т.С. Иваниская¹*

НОВАЯ ПЕРЕВИВАЕМАЯ ЛИНИЯ CAR-1 ЛИМФОИДНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА И ЕЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ЦИТОТОКСИЧЕСКОМУ ДЕЙСТВИЮ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

¹ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев, Украина;

²Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Киев, Украина

Введение. Исследование чувствительности к цитотоксическому действию противоопухолевых препаратов перевиваемых линий лимфоидных клеток человека и ее связи с характеристиками этих клеток представляет значительный интерес для разработки новых моделей скрининга химиотерапевтических средств.

Материалы и методы. Перевиваемую линию лимфоидных клеток Car-1 получали пассированием первичной культуры мононуклеаров периферической крови больного с хроническим лимфопролиферативным заболеванием в кондиционированной среде. Иммунофенотипирование клеток проводили с использованием авидин-биотинового комплекса со щелочной фосфатазой в качестве ферментной метки и панели моноклональных антител к дифференцировочным антигенам В-лимфоцитов. Кариотип клеток исследовали с помощью стандартных методик. ДНК из клеток выделяли с использованием набора innuPREP Virus DNA Kit (Analytik Jena AC, Германия). Детекцию ДНК вируса Эпштейна — Барр (ВЭБ) проводили методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени с использованием набора «ЭБАРПОЛ» (НПФ «Литех», Россия) на амплификаторе qTOWER 2.2 (Analytik Jena, Германия). В качестве контроля использовали стандартные линии В-лимфобластоидных клеток Raji и Namalwa, происходящие из лимфомы Беркитта и содержащие ДНК ВЭБ. Исследовали кинетику роста и гибели

клеток в культуре в присутствии вепезида или флударабина в стандартных концентрациях.

Результаты. Клетки линии Саг-1 обладали фенотипом CD5⁻CD10⁺CD19⁺CD20⁺CD23⁺CD38⁺CD43⁺, отличались значительной гетерогенностью цитоморфологических признаков. Число хромосом на метафазу колебалось от 22 до 55, модальное число хромосом 46 обнаруживали в 32 % клеток. На 100 митотических клеток полиплоидия составляла $8,7 \pm 2,0$ %; полиплоидные клетки были представлены три-, тетра- и пентаплоидами. Хроматидные aberrации встречались в 6 % метафаз. В клетках Саг-1 обнаружено присутствие ДНК ВЭБ на таком же уровне, как и в клетках Raji. Устойчивость к цитотоксическому действию флударабина фосфата и вепезида у клеток полученной перевиваемой линии была сопоставима с таковой у клеток линии Namalwa.

Заключение. Из моноклеаров периферической крови больного с хроническим лимфопролиферативным заболеванием была получена новая линия Саг-1 лимфоидных клеток человека, содержащих геном ВЭБ, которая может быть использована как для изучения механизмов природной лекарственной устойчивости, так и для скрининга соединений с потенциальной противоопухолевой активностью.

С.Д. Задолинная, П. Штраух, А.А. Абдувалиев,

Ю.Ю. Асessorова, В.П. Татарский

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СВОЙСТВА НОВОГО N-ДИХЛОРАМИННОГО КОМПЛЕКСА МЕДИ

Институт химии Университета Потсдама, Потсдам, Германия

Введение. Использование достижений в области химии, биофизики, фармакологии, иммунологии, клеточной и молекулярной онкологии позволяет оценить проблему химиотерапии опухолей и подойти к направленному синтезу биологически активных соединений. Одним из таких соединений явился комплекс $\text{CuC}_{13}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_3\text{Cl}_3$.

Цель исследования — изучение влияния противоопухолевого препарата на различные внутриклеточные процессы, которые в совокупности приводят в действие триггерные механизмы гибели патологических клеток.

Материалы и методы. Современными методами установлены строение, физико-химические свойства и спектр биологического действия нового комплекса. Исследования соединения *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo* в модельных системах, на культурах нормальных и опухолевых клеток, бактериях, животных-опухоленосителях с различными локализациями опухолевого процесса и онкологических больных с запущенными формами рака показали, что препарат является новым индивидуальным химическим соединением с высоким противоопухолевым и антиметастатическим действием.

Результаты. Полученный парамагнитный комплекс в зависимости от условий среды и клеточной мишени может проявлять активирующее действие (стимуляция аэробного дыхания), прооксидантное токсическое действие (окислительная дегградация нуклеиновых кислот) и антиоксидантные способности (тушение активных форм кислорода). Доказанными механизмами действия препарата на опухолевые клетки являются ингибирование гликолиза,

фрагментация ДНК и индукция апоптоза. Экспериментальными исследованиями установлены дополнительные свойства препарата: 1) накапливается преимущественно в опухолевой ткани, проявляя селективность действия; 2) нарушает процессы инвазии и адгезии опухолевых клеток и приводит к «капсулированию» опухоли; 3) являясь ловушкой для заряженных частиц, может эффективно использоваться как в сочетанном применении с радиотерапией, так и в качестве средства репарации пострadiационных лучевых поражений; 4) не вызывает резистентности, преодолевая лекарственную устойчивость организма; 5) не оказывает острого патологического влияния на функции печени и почек и не вызывает в органах и тканях специфических глубоких нарушений и длительных изменений в составе периферической крови.

Заключение. Новый противоопухолевый препарат может быть использован при лечении многих онкологических заболеваний (карцином, сарком, лейкозов, лимфом и т. д.).

С.А. Зайцев

ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ *IN VITRO*

ООО «Диатек», Кольцово, Новосибирская область

Введение. Наблюдающийся в последние годы прогресс в снижении смертности от онкологических заболеваний связан как с разработкой новых высокоэффективных лекарственных средств, так и с организацией в развитых странах обширных скрининговых обследований для выявления онкологических заболеваний на ранних стадиях развития. Однако применяемые методы скрининга обладают рядом недостатков: отсутствие универсальных методов, недостаточные чувствительность и специфичность, дороговизна применяемых методик.

Цель исследования — разработка относительно недорогого универсального метода диагностики онкологических заболеваний на ранних стадиях развития с приемлемыми характеристиками чувствительности и специфичности.

Материалы и методы. Клеточная линия рака молочной железы MCF-7 получена из коллекции клеточных культур Института цитологии РАН (Санкт-Петербург). Клинический материал получен у 10 больных раком молочной железы, колоректальным раком и меланомой, находящихся в МБУЗ ГКБ № 1 (Новосибирск). Моноклеарные клетки (МНК) выделяли стандартным методом из периферической крови пациентов на градиенте фикола. Индекс цитотоксичности (ИЦ) рассчитывали по выходу лактатдегидрогеназы при совместном культивировании МНК и MCF-7, измеренному согласно инструкции производителя (ЗАО «Вектор-Бест»).

Результаты. Установлено, что у пациентов с онкологическими заболеваниями на I и II стадиях среднее значение ИЦ составляет $45,6 \pm 7,3$ и достоверно превышает этот показатель у условно здоровых доноров — $5,6 \pm 1,5$. Чувствительность метода при этом составила 100 % (по 10 пациентам с 3 нозологиями). Специфичность теста (по ИЦ 250 условно здоровых доноров) составила 92 % по ложнопозитивным результатам 1-го рода (определялись по снижению ИЦ при последующих измерениях, в динамике) и выше