

*О.И. Коняева¹, Н.Ю. Кульбачевская¹,
Н.П. Ермакова¹, Н.Б. Морозова²,
Р.И. Якубовская², В.М. Бухман¹, Т.И. Малова³*

ИЗУЧЕНИЕ КОЖНОЙ ФОТОТОКСИЧНОСТИ БОРХЛОРИНА – НОВОГО ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА В ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ

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

²ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, Москва;

³ООО «ВЕТА-Гранд», Москва

Введение. Борированный хлорин еб синтезирован в Институте элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН. В фотосенсибилизатор был введен бор, что позволяет дополнить фотодинамическую терапию бор-нейтронозахватной терапией. В РОНЦ им. Н.Н. Блохина разработана лиофилизированная липосомальная лекарственная форма (ЛЛЛФ) борхлорина.

Цель исследования – показать безопасность использования ЛЛЛФ борхлорина в тесте кожной фототоксичности у животных.

Материалы и методы. Работа проведена на 60 мышцах-самках, гибридах [C57Bl/6JxСВА] F1. Изучена фармакокинетика ЛЛЛФ борхлорина в коже, мышцах, жировой ткани, глазах, печени и крови здоровых мышей с использованием флуоресцентного анализа. Для изучения кожной фототоксичности выбраны интервалы облучения: 3, 24 и 72 ч после однократного внутривенного введения препарата в терапевтической дозе 5,0 мг/кг. Облучение проводили светодиодным источником красного света, разработанным в ГНЦ «НИОПИК», с максимумом длины волны 661 ± 16 нм. Плотность мощности составила 95 мВт/см², плотность энергии – 150 Дж/см², время облучения – 26,3 мин.

Результаты. При изучении фармакокинетики показано, что препарат в течение 3 ч накапливается в коже, достигая максимального значения, а через 48 ч уже не регистрируется. В мышце и глазах нормированная флуоресценция (НФ) препарата не определяется через 5 сут. В жировой ткани НФ регистрируется в течение 5 сут. В печени остаточное количество НФ препарата определяется > 5 сут. В крови НФ препарата регистрировалась в течение 2 сут. Результаты изучения фототоксичности показали, что у всех животных после облучения в течение первых суток развивался отек, интенсивность которого зависела от интервала времени между введением препарата и облучением. При облучении через 3 ч после введения препарата время сохранения отека составило $17,7 \pm 1,0$ сут; через 24 ч – $5,0 \pm 0,1$ сут; через 72 ч – $4,0 \pm 0,1$ сут и у контрольных животных – $2,0 \pm 0,1$ сут. Полученные данные свидетельствуют о снижении кожной фототоксичности препарата через 24 ч после введения в 3,5 раза, а через 72 ч – в 4,4 раза. На 2-е сутки наблюдения у животных, облученных через 3 и 24 ч после введения препарата, образовывался некротический струп. При облучении через 3 сут струпы отсутствовали. Время сохранения струпа составило $18,0 \pm 0,7$ и $8,3 \pm 0,7$ сут соответственно.

Заключение. ЛЛЛФ борхлорина обладает низкой кожной токсичностью в дозе 5,0 мг/кг. При использовании ЛЛЛФ борхлорина в терапевтической дозе световой режим целесообразно соблюдать в течение 4 сут.

*О.И. Коняева¹, Н.Ю. Кульбачевская¹, Н.П. Ермакова¹
В.А. Чалей¹, И.Б. Меркулова¹, Т.В. Абрамова¹,
В.М. Бухман¹, Т.И. Малова²*

ТОКСИЧНОСТЬ НОВОГО ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА БОРХЛОРИНА В ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ

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

²ООО «ВЕТА-Гранд», Москва

Введение. Борированный хлорин еб синтезирован в Институте элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН. В РОНЦ им. Н.Н. Блохина разработана лиофилизированная липосомальная лекарственная форма (ЛЛЛФ) борхлорина.

Цель исследования – изучение субхронической токсичности ЛЛЛФ борхлорина на собаках, а также ее местно-раздражающего и алергизирующего действия.

Материалы и методы. Работа проведена на 6 здоровых собаках породы английский бигль, полученных из разведения РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Препарат вводили собакам внутривенно ежедневно 5-кратно в 2 суммарных дозах 2,5 и 5 мг/кг (дозы препарата были лимитированы объемом при максимально возможной концентрации – 0,25 мг/мл). Срок наблюдения после курса введения – 30 сут. Алергизирующее действие изучали на 60 морских свинках-самках, полученных из питомника ГУ НЦ биомедицинских технологий филиал «Андреевка»; местно-раздражающее действие – на 12 кроликах, полученных из ОПХ «Манихино».

Результаты. ЛЛЛФ борхлорина в изученных суммарных дозах не вызывала видимых проявлений локальной токсичности (местнораздражающего действия) и внешних проявлений интоксикации (общетоксического действия). Препарат вызывал небольшие недозозависимые изменения в периферической крови собак-самок: уменьшение количества лейкоцитов и увеличение скорости оседания эритроцитов (суммарная доза 2,5 мг/кг), уменьшение количества эритроцитов, гемоглобина, показателей гематокрита, снижение среднего объема тромбоцитов и тромбокрита, увеличение (в 3 раза) количества тромбоцитов (суммарная доза 5,0 мг/кг), недозозависимое снижение относительно количества лимфоцитов. Препарат вызывал у собак-самок (суммарная доза 2,5 мг/кг) небольшое увеличение содержания мочевины в сыворотке крови, на вскрытии на 30-е сутки обнаружена морфологическая картина гломерулонефрита и пиелонефрита. ЛЛЛФ борхлорина в суммарной дозе 5,0 мг/кг вызывала функциональные и морфологические проявления кардиотоксичности. Препарат не оказывал влияния на углеводный обмен, морфофункциональное состояние поджелудочной железы и печени.

Заключение. Определены уровни токсических доз: суммарная доза 2,5 мг/кг охарактеризована как низкая токсическая доза (умеренные морфофункциональные изменения в органах и тканях животных, обратимые к концу наблюдения), суммарная доза 5,0 мг/кг – как высокая токсическая доза (значительные необратимые морфофункциональные изменения в органах и тканях собак). Отмечены небольшие половые различия в токсическом действии препарата (самки более чувствительны к ЛЛЛФ борхлорина). Установлено, что ЛЛЛФ борхлорина в фиксированной концентрации 0,25 мг/мл не вызывает мест-

нораздражающего действия. Препарат обладает слабыми аллергизирующими свойствами.

О.И. Коняева, Н.Ю. Кульбачевская, Н.П. Ермакова, В.А. Чалей, И.Б. Меркулова, Т.В. Абрамова, А.В. Смирнова, Е.Ю. Григорьева, А.А. Сергеев, К.А. Серезжин, В.М. Бухман
ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ОБЩЕТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ПОЗИТРОННОЙ ЭМИССИОННОЙ ТОМОГРАФИИ ^{18}F -FCh (^{18}F -ФТОРМЕТИЛХОЛИН)

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

Введение. ^{18}F -FCh (^{18}F -фторметилхоллин) произведен на базе циклотронной радиохимической лаборатории отделения позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ) РОНЦ им. Н.Н. Блохина, является воспроизведенным радиофармацевтическим препаратом.

Цель исследования — доклиническое изучение общетоксического действия диагностического препарата ^{18}F -FCh на лабораторных животных.

Материалы и методы. В работе использованы животные обоего пола: 96 мышей линии BDF1, 72 крысы линии Wistar, 40 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). Параллельно мышам группы сравнения вводили немеченый FCh в дозах, эквивалентных 60 и 1200 ДД по основному веществу. В опытах по острой токсичности максимальные вводимые дозы превышали ДД в 60 раз; в опытах по субхронической токсичности (3-кратно ежедневно внутривенно) на крысах суммарные дозы соответствовали 1, 30 и 60 ДД и на собаках — 1 и 60 ДД.

Результаты. ^{18}F -FCh при однократном внутривенном введении самцам и самкам мышей и крыс не вызывал гибели животных. Внешние проявления интоксикации и половые различия отсутствовали. Установлена хорошая переносимость животными ^{18}F -FCh при многократном применении в дозах, превышающих ДД в 30 и 60 раз. Многократное применение ^{18}F -FCh не оказывало влияния на функциональное и морфологическое состояние практически всех органов и тканей животных. У собак ^{18}F -FCh в дозе, соответствующей 60 ДД, вызывал количественные и качественные изменения электрической активности сердца (уменьшение числа сердечных сокращений, увеличение интервалов QT, PQ и инверсию зубца T). Обнаружение на 30-е сутки небольшого количества гиперэозинофильных волокон в миокарде собаки, получившей ^{18}F -FCh в суммарной дозе, соответствующей 60 ДД, является морфологическим подтверждением гипоксии миокарда. Эти изменения могут считаться проявлением кардиотоксичности. Соединение ^{18}F -FCh не обладает местнораздражающим действием как на 3-и, так и на 15-е сутки после однократного внутривенного введения кроликам. Соединение ^{18}F -FCh обладает слабыми аллергизирующими свойствами. Установлено предельное содержание бактериальных эндотоксинов для соединения ^{18}F -FCh — не более 17,5 ЕЭ/мл, которое было рекомендовано для внесения в проект ФСП.

Заключение. Полученные результаты доклинического изучения токсичности соединения ^{18}F -FCh позволяют рекомендовать его для клинического применения.

О.В. Короткова, Т.Н. Заботина, А.А. Борунова, Д.В. Табаков, И.В. Самойленко, Г.Ю. Харкевич, Л.В. Демидов, З.Г. Кадагидзе
СУБПОПУЛЯЦИОННАЯ СТРУКТУРА ЛИМФОЦИТОВ БОЛЬНЫХ МЕЛАНОМОЙ В ПРОЦЕССЕ ТАРГЕТНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ
ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. В настоящее время в мире проводятся интенсивные исследования по определению роли «контрольных точек иммунитета» — молекул, экспрессирующихся на определенных субпопуляциях лимфоцитов и являющихся мишенями для таргетной иммунотерапии. Разработаны препараты, направленные против CTLA-4, PD1 и др., однако их воздействие на субпопуляцию иммунокомпетентных клеток требует дополнительного изучения.

Цель исследования — изучение субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови в процессе терапии ипилимумабом.

Материалы и методы. Иммунофенотипирование лимфоцитов проводили методом многопараметрового цитофлуориметрического анализа до и после 4 введений ипилимумаба (3 мг/кг каждые 21 день). В исследование были включены 53 пациента с диссеминированной меланомой. В качестве контрольных образцов использовали периферическую кровь 39 практически здоровых доноров. Больные были разделены на 2 группы: 1-я — со стабилизацией процесса ($n = 22$) и 2-я — с прогрессированием заболевания ($n = 31$). Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Sigma Plot 11.0 for Windows.

Результаты. Выявлено, что количество $\text{CD}3^+$ Т-клеток после лечения у пациентов 1-й группы возросло по отношению к исходному уровню и статистически значимо отличалось от такового во 2-й группе ($77,3 \pm 11,2$ и $70,4 \pm 11,5$ соответственно; $p = 0,04$). Количество $\text{CD}3^+\text{CD}4^+$ Т-клеток у больных 1-й группы до и после лечения было в пределах нормы, в отличие от пациентов 2-й группы, у которых и до и после лечения количество этих клеток было статистически значимо ниже контрольных значений. Также в 1-й группе нормализовалось соотношение $\text{CD}4/\text{CD}8$. Цитотоксический потенциал $\text{CD}8^+$ -лимфоцитов во 2-й группе был статистически значимо выше контроля и до и после лечения, а в 1-й группе после лечения он несколько снизился. У пациентов 1-й группы отмечалась тенденция к снижению количества NKT-клеток ($\text{CD}3^+\text{CD}16^+\text{CD}56^+$). Во 2-й группе количество эффекторных клеток памяти с фенотипом $\text{CD}8^+\text{CD}11b^+\text{CD}28^+$ возросло после лечения ($9,2 \pm 8,4$ и $15,2 \pm 12,8$), а в 1-й группе оно было статистически значимо выше контроля и до и после лечения ($11,4 \pm 9,6$ и $15,8 \pm 11,1$). В то же время в 1-й группе количество регуляторных клеток $\text{CD}8^+\text{CD}11b^- \text{CD}28^-$ до лечения было выше контрольных значений, а после лечения снизилось до уровня контроля и стало статистически значимо ниже, чем до лечения ($15,7 \pm 11,6$ и $9,7 \pm 4,1$; $p = 0,04$). Во 2-й группе количество этих клеток было практически на одном