

уровне и до и после лечения и не отличалось от контроля ($10,8 \pm 7,0$; $11,68 \pm 7,0$ и $9,3 \pm 7,2$ соответственно). В 1-й группе статистически значимо повышено количество CD25⁺-лимфоцитов как до, так и после лечения по сравнению с контролем. В то же время число регуляторных клеток CD4⁺CD25⁺CD127^{low/neg} в обеих группах находилось в пределах контрольных значений.

Заключение. Изучен субпопуляционный состав периферической крови больных меланомой в процессе терапии ипилимумабом.

*Л.И. Корытова, Е.В. Власова, А.В. Павловский,
Г.Л. Васильев, А.В. Козлов*

ХИМИОЛУЧЕВАЯ ТЕРАПИЯ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ФГБУ РНЦРХТ Минздрава России, Санкт-Петербург

Введение. В 2014 г. в РФ зарегистрировано 14 796 новых случаев заболевания раком поджелудочной железы (РПЖ), из них > 70 % на момент установления диагноза — III–IV стадии. На момент установления диагноза 30 % больных нерезектабельны, даже при отсутствии дистальных метастазов.

Цель исследования. Для повышения эффективности комбинированной химиолучевой терапии проведен анализ применения конформной лучевой терапии (КЛТ) в режиме среднего фракционирования и регионарной химиотерапии больных местно-распространенным РПЖ без отдаленных метастазов.

Материалы и методы. За 2013–2014 гг. данное лечение проведено 27 пациентам с гистологически верифицированным местно-распространенным РПЖ. Включение в исследование проводилось на основании физикального осмотра, чрескожной трепан-биопсии под ультразвуковым контролем, мультиспиральной компьютерной томографии органов брюшной полости, диагностической ангиографии (ДАГ). По локализации опухолевого процесса: головка и тело поджелудочной железы с вовлечением устья чревного ствола или начального отдела верхней брыжеечной артерии — 18 больных, хвост поджелудочной железы с сегментарным поражением общей печеночной артерии — 9 больных. Лечение проводилось в 2 этапа. На первом этапе выполнялась ДАГ для определения степени вовлечения сосудов в опухолевый процесс. После диагностики катетер устанавливался в чревном стволе для проведения регионарной химиотерапии Гемзаром — 1000 мг/м², длительность инфузии 2 ч. Второй этап — проведение КЛТ на область поджелудочной железы в многопольном статическом режиме, разовая очаговая доза 3 Гр, $n = 17$, до эквивалентной суммарной очаговой дозы 62 Гр. Для каждого пациента было изготовлено индивидуальное фиксирующее устройство — матрац. Качество укладки контролировалось системой визуализации рентгеновского объемного изображения (XVI). Лучевая терапия проводилась на линейном ускорителе Elekta Axesse. Срок наблюдения составил 6–12 мес.

Результаты. За период наблюдения стабилизация была достигнута у 10 пациентов, частичный регресс — у 8, выраженность болевого синдрома уменьшилась у 5, в том числе у 2 больных с изолированным поражением общей печеночной артерии удалось произвести оперативное лечение, оба

пациента живы в срок 12 и 18 мес без признаков рецидивирования заболевания, умерли 6 пациентов. Осложнения: лейкопения I–II степени — 4 больных, анемия I–II степени — 4 и тромбоцитопения I–II степени — 6 пациентов.

Заключение. Комбинированная терапия с применением регионарной химиотерапии Гемзаром 1000 мг/м² и КЛТ является безопасным и эффективным методом, повышающим качество жизни больных местно-распространенным РПЖ без отдаленных метастазов.

*С.Н. Корякин, С.Е. Ульяненко, Е.В. Исаева,
Е.Е. Бекетов, М.В. Трошина*

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФОТОН-ЗАХВАТНАЯ ТЕРАПИЯ НА КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЕ И ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

*МРНЦ им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ НМИРЦ
Минздрава России, Обнинск, Калужская область*

Введение. Исследования, направленные на повышение эффективности фотон-захватной или других бинарных методов лучевой терапии, в последние годы интенсивно развиваются. Особое внимание уделяется оценке величины вклада фотон-захватных событий в суммарную поглощенную дозу при облучении биологических объектов рентгеновским излучением.

Цель исследования — определение биологической эффективности рентгеновского излучения в сочетании с фотон-захватными событиями на клеточной культуре и животных-опухоленосителях.

Материалы и методы. Исследование зависимости развития фотон-захватных реакций от дозы рентгеновского излучения (2–10 Гр) проводили по тесту клоногенной активности клеток мышины меланомы В-16, культивируемых в питательной среде с добавлением золотосодержащего нанокompозита (концентрация золота 100 мкг/мл), предоставленного компанией «МАРТИНЕКС» (Москва). Значения относительной биологической эффективности (ОБЭ) рассчитывали по уровню 10 % выживаемости клеток. Также проводили эксперименты на крысах с привитой опухолью — саркомой М-1. Дозы локального облучения — 28, 32 и 36 Гр для групп животных без введения в опухоль золотосодержащего соединения. При однократном введении в опухоль золотосодержащего нанокompозита (4 мг золота на опухоль) за 15 мин до облучения доза составила 28 Гр. Оценивали противоопухолевую эффективность по критерию подавления роста опухоли и проявлению кожных реакций. Облучение культуры клеток и животных проводили на рентгеновской установке для обработки крови — СОУК. Источники излучения — 2 рентгеновские трубки, установленные в излучателях РАП 220–5, напряжение на аноде 180 кВ, средний ток 5 мА. Мощность дозы облучения составляла 1,3 Гр/мин.

Результаты. В опытах *in vitro* инкубация клеток мышинной меланомы В-16 в течение 24 ч перед облучением в среде с содержанием золота 100 мкг/мл дает значение коэффициента ОБЭ по тесту 10 % выживаемости клеток — 1,5. В опытах *in vivo* воздействие рентгеновского излучения в дозе 28 Гр в сочетании с введением золотосодержащего соединения позволило получить противоопухолевый эффект, равный возникающему после локального облучения

в дозе 32 Гр (площади под кривой динамики роста опухоли составили 30,96 и 31,30 усл. ед. соответственно). Выигрыш в дозе за счет фотон-захватных событий на золоте составил 4 Гр, или 14,3 % от разовой очаговой дозы, при том что проведенные методом Монте-Карло расчеты предсказывали увеличение дозы всего на 5 %. Введение золотосодержащего соединения никак не сказалось на проявлении дополнительных кожных реакций.

Заключение. Проведенные исследования свидетельствуют о высокой биологической эффективности вторичного излучения, образующегося при реакциях фотон-захватного взаимодействия рентгеновского излучения и атомов золота.

Исследования проведены при финансовой поддержке РФФИ (проект № 14-44-03084).

*Е.Н. Кособокова¹, М.В. Пинюгина¹, А.И. Щербаков¹,
Е.В. Шешукова², Ю.Л. Дорохов², В.С. Косоруков¹*

ПОЛУЧЕНИЕ МОДЕЛИ СЛИТНЫХ БЕЛКОВ НА ОСНОВЕ АНТИТЕЛ И ЦИТОКИНОВ В ЦЕЛЯХ ИЗУЧЕНИЯ ВОЗМОЖНОСТИ ТАРГЕТНОЙ ДОСТАВКИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

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

²НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва

Введение. Попытки уменьшить возникающую при сочетанном лечении кумулятивную иммуносупрессию применением интерферона α -2b (ИФНа-2b) не дали терапевтического выигрыша на фоне собственного побочного действия цитокина. Подход к решению указанной проблемы возможен при создании новой конструкции слитного рекомбинантного белка, в которой компонент мАт к Her2 обеспечит направленную доставку и блокирование рецептора Her2, а цитокиновый компонент реализует собственное биологическое действие в зоне микроокружения опухоли.

Цель исследования — изучение модели гибридного белка на основе моноклональных гуманизированных антител против опухолевого антигена Her2 и ИФНа-2b человека (антиHer2 — чИФНа-2b).

Материалы и методы. Генно-инженерными методами модификации дезоксирибонуклеиновой кислоты и искусственного синтеза последовательностей были созданы 4 генетические конструкции, отличающиеся промоторными участками (промоторы 35S и промотор гена актина *Akt*) и длиной линкера между антителом и цитокином: 35S-Her2-L15-IFN, 35S-Her2-L6-IFN, Akt-Her2-L15-IFN, Akt-Her2-L6-IFN. В работе использована относительно простая, безопасная и малозатратная технология экспрессии рекомбинантных белков в листовой биомассе транзитивно трансфицированных растений (*Nicotiana benthamiana*). Очистку целевого белка проводили в несколько этапов: экстракция, фильтрация, аффинная хроматография, гель-фильтрация. Для оценки уровня экспрессии и идентификации белка использовали методы фореза полиакриламидным гелем и иммуноферментного анализа (ИФА). Была разработана методика оценки качества сборки гибридной конструкции, в соответствии с которой антиHer2-чИФНа-2b наносили на планшет с антителами против иммуногло-

булина G, а далее на гибридную конструкцию сажали антитела против чИФНа-2b, меченные пероксидазой хрена.

Результаты. Полученные результаты свидетельствуют об успешной экспрессии гибридного белка антиHer2-чИФНа-2b. Наибольший уровень экспрессии слитного белка был получен при использовании промотора гена актина *Akt*. Методом ИФА в различных исполнениях было доказано, что гибридный белок действительно содержит в составе одной белковой частицы полноразмерное антитело, имеющее аффинность к антигену Her2 и узнаваемое антителами против иммуноглобулинов человека, и домен чИФНа-2b, узнаваемый соответствующими антителами. На культуре клеток нормальных фибробластов 3T3 было показано отсутствие цитотоксического эффекта терапевтических доз гибридного белка. В настоящее время ведутся работы по изучению биологической активности каждого из компонентов гибридной конструкции различными методами в целях оценки эффективности создания слитных белков подобной конфигурации.

Заключение. Полученные результаты подтверждают возможность успешного получения методом растительной транзиторной экспрессии сложных многокомпонентных белков, таких как слитные конструкции моноклональных антител с другими биологически активными белками, например чИФНа-2b. Дальнейшие исследования позволят оценить практическую перспективность данного подхода.

*А.И. Котельников, А.Ю. Рыбкин, Н.С. Горячев, А.Ю. Белик,
П.А. Михайлов, А.В. Жиленков, П.А. Трошин*

НОВЫЕ ПРИНЦИПЫ СОЗДАНИЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ГИБРИДНЫХ СТРУКТУР ФУЛЛЕРЕН–КРАСИТЕЛЬ ИПХФ РАН, Черноголовка, Московская область

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 фуллера энергия возбуждения красителя эффективно передается на фуллерен и с высокой эффективностью 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