

Заключение. Таким образом, у больных КРР наблюдается повышение уровня экспрессии мРНК гена *FcγRIIb* на фоне снижения уровня экспрессии мРНК гена *FcγRIIIa*. Полученные данные свидетельствуют о том, что повышение сывороточного содержания растворимого CD16 скорее всего связано с более высоким уровнем мРНК гена *FcγRIIb*.

Г.И. Кричевская, А.С. Андрияшин, О.С. Слепова, С.В. Саакян, Е.Б. Мякошина, Т.А. Андреева, А.В. Трухина, Г.П. Захарова, А.М. Майбогин

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ БИОПТАТОВ ОПУХОЛЕЙ ОРБИТЫ И ГЛАЗА

ФГБУ «МНИИ ГБ им. Гельмгольца» Минздрава России, Москва

Введение. Известно значение многочисленных офтальмотропных возбудителей хронических инфекций в воспалительной патологии глаза. Однако только в единичных сообщениях оценивается их роль в этиопатогенезе опухолей глаза и орбиты.

Цель исследования – сравнительное изучение частоты выявления дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) широко распространенных офтальмотропных возбудителей в биоптатах опухолей глаза, орбиты и в плазме крови.

Материалы и методы. Биоптаты опухолей и плазма крови 28 пациентов с верифицированными лимфомами орбиты (ЛО, $n = 7$), меланомой хориоидеи (МХ, $n = 10$), ретинобластомой (РБ, $n = 11$) исследовали методом полимеразной цепной реакции в реальном времени на наличие геномов вирусов простого герпеса 1-го и 2-го типа, вируса Эпштейна – Барр (ВЭБ), цитомегаловируса (ЦМВ), вирусов герпеса человека 6-го и 8-го типов (ВГЧ-6, -8), токсоплазмы, хламидии трахоматис, микоплазмы гоминис и *Ureaplasma spec.*

Результаты. В целом геномы различных патогенов выявлены в 46 % биоптатов опухолей (86 % ЛО, 45 % РБ и 20 % МХ) и только в 3,6 % анализов плазмы крови ($p > 0,05$). Спектр возбудителей при ЛО, МХ и РБ различался: при ЛО обнаружены только лимфотропные герпесвирусы (ВЭБ, ВГЧ-6, -8) с преобладанием ВЭБ; при РБ – ЦМВ, ВЭБ, ВГЧ-6; при МХ – хламидии, ВЭБ, ЦМВ.

Заключение. Выявлена высокая частота детекции ДНК ВЭБ и ВГЧ-6 в ткани ЛО по сравнению с МХ и РБ. Необходимы дальнейшие исследования для оценки роли герпес-вирусов и других обнаруженных микроорганизмов в этиопатогенезе опухолей глаза и орбиты.

М.Е. Кукушкин, А.Г. Мажуга, Е.К. Белоглазкина, Н.В. Зык

СОЗДАНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ДИСПИРОПРОИЗВОДНЫХ 2-ТИОКСО-ТЕТРАГИДРО-4Н-ИМИДАЗОЛ-4-ОНОВ

Химический факультет ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва

Введение. В настоящее время актуальной является задача поиска непептидных низкомолекулярных ингибиторов белка MDM2, который взаимодействует с белком p53, являющимся опухолевым супрессором, играющим ключевую роль в жизненном цикле клетки и апоптозе. Ингибитор связывается с MDM2, за счет чего высвобождается p53,

который запускает процесс разрушения опухоли. Таким образом, повышение активности клеточного белка p53 путем блокирования взаимодействия с его эндогенным ингибитором онкобелком MDM2 является новым направлением в терапии раковых заболеваний. Так, большинство синтезируемых соединений-ингибиторов в своей структуре имеют спироиндолиноновый фрагмент, который имитирует взаимодействие Trp23 из p53 с MDM2, заполняя в нем глубокий гидрофобный карман, являющийся наиболее важным участком для их связывания.

Цель исследования – синтез различных производных 2-тиоксо-тетрагидро-4Н-имидазол-4-онов двух структурных типов, содержащих в себе спироиндолиноновый фрагмент, для их дальнейшего биологического тестирования и определения зависимости структура – активность.

Материалы и методы. Исходя из наличия коммерчески доступных реагентов, разработаны способы получения спироиндолинонов путем 1,3-диполярного циклоприсоединения продукта взаимодействия изатинов и N-замещенных аминокислот с производными 2-тиоксо-тетрагидро-4Н-имидазол-4-онов с образованием соединений, в структуре которых имеется жесткий каркас из 3 спиросочлененных гетероциклов, содержащий заместители различной природы, в основе которого лежит спироиндолиноновое ядро. Структура получаемых соединений была подтверждена с использованием комплекса физико-химических методов, таких как корреляционная ядерная магнитно-резонансная спектроскопия, масс-спектрометрия высокого разрешения (HRMS) и рентгеноструктурный анализ.

Результаты. Разработан универсальный синтетический подход к получению новых классов диспиропроизводных на основе 2-тиоксо-тетрагидро-4Н-имидазол-4-онов и предложен препаративно удобный метод синтеза данных соединений. На клеточных линиях LNCaP, PC3 и HCT p53^(+/+) и HCT p53^(-/-) исследована цитотоксичность полученных соединений и определены предварительные соединения-лидеры. Методом конфокальной флуоресцентной микроскопии на примере клеточной культуры НЕК-293 показано, что конъюгат диспиропроизводных на основе 2-тиоксо-тетрагидро-4Н-имидазол-4-онов и флуоресцентного красителя diSulfoCy5 проникает через клеточную мембрану.

Заключение. По полученным в ходе работы результатам было установлено, что исследуемые классы спироиндолинонов проявляют хорошую аффинность к сайту связывания белков p53 – MDM2, что дает возможность судить о потенциальной перспективности проводимых исследований.

Е.В. Кулигина, А.А. Немудрая, Г.В. Кочнева, В.А. Рухтер

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ПРЕПАРАТ ЛАКТАПТИН: СПОСОБЫ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИХБФМ СО РАН, Новосибирск

Введение. Создание систем адресной доставки лекарственных средств к клеткам опухоли является актуальным и активно развивающимся направлением исследований. Противоопухолевый препарат Лактаптин индуцирует апоптоз раковых клеток человека в культуре и тормозит рост и метастазирование опухолей животных и человека. Адресная доставка Лактаптина позволит повысить эффек-

тивность его противоопухолевого действия и снизить возможное цитотоксическое действие на нормальные клетки.

Цель исследования – разработка систем адресной доставки Лактапина к опухолевым клеткам.

Материалы и методы. Отбор опухоль-адресованных пептидов, экспонированных в составе поверхностного белка рIII нитчатого бактериофага М13, проводили из фаговой пептидной библиотеки в системах *in vitro* и *in vivo*. Плазмиды, несущие гены, кодирующие рекомбинантный слитый белок, состоящий из опухоль-адресованного пептида и Лактапина, получали методами генной инженерии. Таким образом выведены рекомбинантные штаммы вируса осповакцины со встройкой 2 трансенов – апоптозиндуцирующего белка лактапина и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) человека – в районы генов тимидинкиназы и вирусного ростового фактора.

Результаты. Проведен отбор опухоль-адресованных пептидов в системе *in vitro* на культурах раковых клеток мыши и человека и *in vivo* на мышинной опухолевой модели и на опухоли молочной железы человека в модели ксенографтов. Получены рекомбинантные плазмиды, кодирующие рекомбинантные слитые белки, состоящие из отобранных пептидов и Лактапина, и штаммы *Escherichia coli* – продуценты слитых белков. Цитотоксическая и апоптотическая активность рекомбинантных белков в отношении раковых клеток человека в культуре не уступает активности Лактапина, при этом тропность слитых белков к опухоли превышает тропность Лактапина в 3–5 раз. Получены рекомбинантные штаммы вируса осповакцины с двойной делецией генов тимидинкиназы и ростового фактора и встройкой в делетированные участки генома 2 трансенов – апоптозиндуцирующего белка лактапина и ГМ-КСФ человека: VV-GMCSF Lact – вариант с секретрируемой формой лактапина; VV-GMCSF-S (long) – Lact – вариант с секретрируемой формой лактапина с длинной лидерной последовательностью; VV-GMCSF-S-Lact – вариант с секретрируемой формой лактапина с короткой лидерной последовательностью. Все полученные рекомбинанты продемонстрировали высокую цитотоксическую активность в отношении клеток рака молочной железы человека MCF7 и MDA-MB-231. Также показано, что вирус с двойными делециями (аттенуированный вирус осповакцины) адресно накапливается в клетках опухоли при внутриопухолевом введении и способен находить отдаленные метастазы и реплицироваться в них.

Заключение. Разработаны системы адресной доставки противоопухолевого препарата Лактапин, позволяющие повысить противоопухолевую эффективность лекарственного средства.

Н.Ю. Кульбачевская, О.И. Коняева, Н.П. Ермакова, В.А. Чалей, А.А. Сергеев, К.А. Серезин, В.М. Бухман
СРАВНИТЕЛЬНОЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ВОСПРОИЗВЕДЕННОГО ВИНКРИСТИНА И ВИНКРИСТИНА ФИРМЫ ТЕВА
 ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. В лаборатории разработки лекарственных форм РОНЦ им. Н.Н. Блохина воспроизведена лекарст-

венная форма винкристина (ВК-В), в лаборатории фармакологии и токсикологии проведено доклиническое токсикологическое изучение ВК-В в сравнении с винкристином фирмы Тева, Израиль (ВК-Т).

Цель исследования – сравнительное изучение острой и субхронической токсичности ВК-В и ВК-Т на мелких лабораторных животных для подтверждения их идентичности.

Материалы и методы. Исследования проведены на 70 мышак-самцах гибридах $B_6D_2F_1$ и 160 неинбредных крысах-самцах, полученных из разведения РОНЦ им. Н.Н. Блохина. ВК-В – раствор для внутривенного (в/в) введения с концентрацией ВК 0,93 мг/мл, во флаконе по 2 мл, серия 031014. ВК-Т – раствор для в/в введения с концентрацией ВК 1 мг/мл, во флаконе по 1 мл, серия 14F20KF. В опытах по острой токсичности препараты вводили мышам однократно в/в в диапазоне доз от 2 до 10 мг/кг, крысам – от 0,25 до 1,5 мг/кг. В опытах по субхронической токсичности препараты вводили в/в ежедневно трехкратно в 3 суммарных дозах 0,25; 0,5 и 0,75 мг/кг. Срок наблюдения за животными составил 30 сут.

Результаты. В результате проведенных исследований установлено, что ВК-В и ВК-Т у животных вызывают одинаковые проявления токсичности: пилоэрекцию, сужение глазных щелей, гиподинамию, диарею, анорексию, сукровичные выделения из носа и глаз. Установлено, что сроки гибели и число павших животных, как в опытах на мышак, так и в опытах на крысах, получавших ВК-В и ВК-Т, практически не отличаются. Получены расчетные токсические дозы для крыс ВК-В: $LD_{10} = 0,54$ мг/кг; $LD_{50} = 0,77 (0,66 \div 0,91)$ мг/кг и ВК-Т: $LD_{10} = 0,42$ мг/кг; $LD_{50} = 0,61 (0,48 \div 0,71)$ мг/кг, которые практически не отличаются друг от друга. По результатам изучения субхронической токсичности установлено, что ВК-В и ВК-Т по показателям токсичности (клинические проявления токсичности, летальность, гепатотоксичность, биомаркеры токсичности, морфометрия органов) и по результатам патоморфологического исследования практически не отличаются друг от друга.

Заключение. На основании результатов, полученных при сравнительном изучении ВК-В и ВК-Т, установлено, что препараты практически идентичны по показателям как острой, так и субхронической токсичности.

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

ИЗУЧЕНИЕ СУБХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ БОРХЛОРИНА – НОВОГО ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА В ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ НА КРЫСАХ

¹ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва;

²ООО «ВЕТА-Гранд», Москва

Введение. Борированный хлорин еб синтезирован в ИНЭОС 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.