

ного препарата. В связи с этим возникает необходимость поиска фармакологических агентов, способных избирательно модулировать глутаматные рецепторы.

Цель исследования — изучить влияние монотерапии и сочетанного действия агонистов глутаматных рецепторов и ингибиторов пролиферации на опухолевые клетки в динамике.

Материалы и методы. Работа выполнена на клеточной линии глиомы крысы С6 (экспериментальная модель мультиморфной глиобластомы человека). Использовали методы культивирования клеток *in vitro*, цитологический, статистический. Пролиферацию опухолевых клеток глиомы крысы С6 оценивали по митотическому индексу (МИ, %), количеству генераций популяции клеток (Г), времени удвоения популяции (ВУП, ч), а также оценивали ингибирующую активность изучаемых веществ. Агонисты глутаматных рецепторов — α -глутаминовая кислота в дозах 10 и 1000 мкМ; ингибиторы пролиферации — темозоломид 10, 100, 1000 мкг/мл; цисплатин 0,4; 4; 40 мкг/мл.

Результаты. Митотическая активность опухолевых клеток *in vitro* в условиях острого и пролонгированного действия на них α -глутаминовой кислоты в дозах 10 и 1000 мкМ снижается по сравнению с контролем. В условиях кратковременного (6 ч) воздействия α -глутаминовой кислоты пролиферация клеток снижается на 60 и 54 % соответственно, а при более длительном воздействии (72 ч) на 74 и 81 % по сравнению с контролем. Ингибирующая активность темозоломида сильнее выражена при сочетанном воздействии с α -глутаминовой кислотой на клетки С6 и эффект сохраняется в течение 48 ч. В условиях раздельного действия темозоломид в дозе 1000 мкг/мл подавляет пролиферацию клеток на 82 %, а при воздействии на фоне α -глутаминовой кислоты пролиферативная активность восстанавливается до контрольного уровня. Ингибирующая активность цисплатина также возрастает на фоне изменения функционального состояния глутаматных рецепторов при действии α -глутаминовой кислоты в дозе 10 мкМ.

Заключение. Нарушения функционального состояния глутаматных рецепторов опухолевых клеток С6 α -глутаминовой кислотой усиливает действие цитостатических препаратов темозоломида и цисплатина на пролиферацию клеток и активирует их гибель.

Л.Н. Николаевич, К.Н. Саунина, О.И. Голубович, Е.Ф. Полукошко

КЛОН-ИНДУЦИРОВАННАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ГЛУТАМАТНОЙ «ЭКСАЙТОТОКСИЧНОСТИ» *IN VITRO*
ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Введение. Одним из подходов разработки способов регуляции пролиферации клеток являются изучение клональной гетерогенности популяции опухолевых клеток в условиях моделирования глутаматной «эксайтотоксичности» и использование в качестве лекарственных средств естественных возбуждающих медиаторов.

Цель исследования — изучить клон-индуцированную чувствительность опухолевых клеток при моделировании глутаматной «эксайтотоксичности» *in vitro*.

Материалы и методы. Методом клонирования *in vitro* опухолевых клеток С6 проведены исследования на модели глутаматной «эксайтотоксичности». Развитие процесса индуцировали добавлением глутамата натрия, L-глутаминовой кислоты и NMDA в «эксайтотоксических» дозах (2, 20, 200 мкМ; 20, 200 мМ; 100 мкМ соответственно) в монослойную культуру на стадии логарифмического роста. Спустя 24 ч (время удвоения популяции клеток С6) одна часть клеточной популяции была расклонирована на чашки Петри, а другая — субкультивирована во флаконах и в логарифмической фазе роста популяция клеток была расклонирована. Оценивали эффективность клонирования опухолевых клоногенных клеток.

Результаты. Установлено, что инкубирование опухолевых клеток с агонистами глутаматных рецепторов — глутаматом натрия и L-глутаминовой кислотой приводит к гибели клеток по отношению к контролю. Показано, что угнетение пролиферации клоногенных клеток С6 сохраняется после субкультивирования клеток, подвергшихся действию глутамата натрия в дозе 2 мкМ (ЛД₇₀), L-глутаминовой кислоты в дозе 200 мМ (ЛД₉₀). В условиях воздействия глутамата натрия и L-глутаминовой кислоты на клоногенные клетки в клонях наблюдается их резистентность. L-глутаминовая кислота в дозах ниже «эксайтотоксических» (10 мкМ) не влияет на пролиферацию клоногенных клеток. Также показано, что клоногенные клетки в клонях резистентны к воздействию агониста глутаматных рецепторов NMDA (N-метил-D-аспартат) в дозе 100 мкМ.

Заключение. Возможно, в механизме нарушения эффективности клонирования опухолевых клеток лежит активация реакции глутаматной «эксайтотоксичности».

Л.Н. Николаевич, К.Н. Саунина, О.И. Голубович, Т.А. Хрусталёва, Е.Ф. Полукошко, Е.С. Барашкова

ВЛИЯНИЕ АНТАГОНИСТОВ ГЛУТАМАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ КЛОНИРОВАНИЯ И МЕТАБОЛИЗМ ОПУХОЛЕВЫХ КЛОНОГЕННЫХ КЛЕТОК

ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь

Введение. Внутриопухолевая гетерогенность, свойственная большинству злокачественных новообразований человека, является основной преградой на пути высокоэффективной диагностики онкологических заболеваний, к успешному прогнозу и лечению.

Цель исследования — изучить влияние фенитоина и ламотригина на эффективность клонирования и метаболизм опухолевых клоногенных клеток.

Материалы и методы. Работа выполнена на перевиваемой линии клеток глиомы крысы С6. В исследовании использовали цитологический метод (анализ эффективности клонирования клеток С6 в клонях), методы культивирования и клонирования клеток *in vitro*, биохимический (определение активности щелочной фосфатазы (ШФ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ)), статистический. В качестве антагонистов глутаматных рецепторов применяли фенитоин (5,5-дифенил-гидантоин, Sigma, США) в дозах 1, 10, 100, 1000 мкг/мл и ламотригин (6-(2,3-ди-

хлорфенил)-1,2 триазин-3,5-диамин, Sigma, США) в дозах 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} М.

Результаты. Изучено влияние фенитоина и ламотригина на пролиферацию клоногенных клеток при воздействии на монослой и при введении в клоны. Показано, что при воздействии фенитоина в дозах 1000 и 100 мкг/мл на гетерогенную популяцию клеток С6 достоверно снижается эффективность клонирования (ЭК) клеток. При низких дозах фенитоина (10 и 1 мкг/мл) ЭК клеток превышает контрольный уровень. В условиях воздействия фенитоина в дозе 1000 мкг/мл на клоногенные клетки в клонах ЭК достоверно снижается по сравнению с контролем. Также наблюдается увеличение доли неклоногенных клеток. Регистрируется низкая ингибирующая активность ламотригина в дозе 10^{-4} М на клоногенные клетки в клонах. В условиях воздействия фенитоина и ламотригина на монослой клеток и клоногенные клетки в клонах достоверно снижается активность ЩФ и ЛДГ по сравнению с контролем.

Заключение. При воздействии фенитоина и ламотригина на клоногенные клетки в монослой клеток С6 и в клонах снижается ЭК клоногенных клеток и активность ферментов метаболизма. Можно предположить, что блокировка глутаматными антагонистами активного ионного тока через цитоплазматическую мембрану может быть именно тем механизмом, который обуславливает антипролиферативный эффект.

*А.А. Николкина, Н.Ю. Кульбачевская, О.И. Коняева,
Н.П. Ермакова, В.А. Чалей, А.А. Сергеев,
К.А. Серезин, В.М. Бухман*

СУБХРОНИЧЕСКАЯ ТОКСИЧНОСТЬ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ГЛИКОЗИДНОГО ПРОИЗВОДНОГО ИНДОЛОКАРБАЗОЛА НА СОБАКАХ

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

Введение. ЛХС-1208 – новый противоопухолевый препарат на основе гликозидного производного индолокарбазола, разработанный в лаборатории химического синтеза РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Данная работа является продолжением токсикологических исследований ЛХС-1208.

Цель исследования – изучение субхронической токсичности нового противоопухолевого лекарственного средства ЛХС-1208 на собаках.

Материалы и методы. Работа проводилась на 4 собаках (3 самки и 1 самец) породы английский бигль, полученных из разведения РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Препарат (серия 110414) растворяли в воде для инъекций до получения рекомендованной концентрации – 3,0 мг/мл. ЛХС-1208 вводили собакам ежедневно внутривенно 15-кратно в 2 суммарных дозах 20 и 30 мг/кг. Дозы были рассчитаны исходя из данных, полученных в результате изучения субхронической токсичности на крысах. Собаки были выведены из эксперимента на 3-и и 60-е сутки после окончания курса введения ЛХС-1208.

Результаты. Установлено, что ЛХС-1208 при внутривенном ежедневном 15-кратном применении в суммарных дозах 20 и 30 мг/кг не вызывал гибели животных. У всех собак наблюдались внешние проявления интоксикации

и изменения поведенческих реакций только после первого введения препарата в течение 5 мин: собаки трясали головой, наблюдались акты дефекации и мочеиспускания, состояние оглушенности, ступора, жажды, сокращения мышц живота, подергивание лап. Установлено, что ЛХС-1208 в исследованных дозах вызывал недозозависимое уменьшение количества тромбоцитов; оказывал недозозависимое влияние на углеводный обмен и функцию поджелудочной железы, что проявлялось тенденцией к снижению уровня глюкозы в сыворотке крови с 7-х суток и до конца наблюдения; оказывал недозозависимое влияние на синтезирующую функцию печени, что проявлялось тенденцией к снижению количества общего белка и альбумина с 21-х суток и до конца наблюдения; но не вызывал нарушения барьерной функции печени (уровни аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы, общего билирубина колебались в пределах физиологической нормы для данного вида), а также не оказывал влияния на функциональное состояние почек. Установлено, что препарат ЛХС-1208 вызывал количественные и качественные изменения электрической активности сердца: увеличение интервалов QT и PQ, инверсию зубца T и появление глубокого зубца Q.

Заключение. На основании полученных данных по изучению субхронической токсичности препарата ЛХС-1208 при 15-кратном ежедневном внутривенном введении собакам в суммарных дозах 20 и 30 мг/кг установлены лимитирующие виды токсичности, ограничивающие клиническое применение препарата: гематотоксичность (тромбоцитопения), гепатотоксичность и кардиотоксичность.

Д.В. Новиков¹, С.Г. Фомина¹, Н.Н. Гурина¹, Н.В. Красногорова¹, А.Д. Перенков², Р.Г. Пегов², Л.Б. Луковникова², В.В. Новиков¹, А.Ю. Барышников³ **СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УРОВНЕЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В ОПУХОЛЯХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ТОЛСТОЙ КИШКИ**

*¹ФГАОУ ВО «ННГУ им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород;
²ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава России, Нижний Новгород;
³ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва*

Введение. Развитие и прогрессия злокачественных опухолей тесно связаны с изменением экспрессии генов иммунной системы. Одним из модуляторов транскрипционных изменений в раковой клетке является MUC1 (CD227), участвующий в передаче сигналов, приводящих к изменениям метаболизма, адгезии, пролиферации и апоптоза. Экспрессия MUC1 опухолевыми клетками эпителиального происхождения ассоциирована с плохим прогнозом течения заболевания и негативным ответом на терапию.

Цель исследования – характеристика экспрессии генов иммунной системы *IL32*, *Fas*, *ICAM1*, *FoxP3*, *FCRIII* в MUC1-позитивных (MUC1⁺) и MUC1-негативных (MUC1⁻) опухолевых очагах больных раком молочной железы (РМЖ) и раком толстой кишки (РТК).

Материалы и методы. В образцах опухолевых очагов 40 больных РМЖ и 58 больных РТК исследовали уровни мРНК MUC1, *IL32*, *Fas*, *ICAM1*, *FoxP3*, *FCRIII* и *FCRIII*