

вует об увеличении роли межмолекулярных белок-белковых взаимодействий, стабилизирующихся за счет формирования межмолекулярных  $\beta$ -структур.

**Заключение.** Полученные нами данные свидетельствуют о том, что избыток тяжелых или легких цепей в сыворотке крови приводит к их взаимодействию между собой, что проявляется в спектрах как увеличение доли межмолекулярных  $\beta$ -структур. Однако данные инфракрасной спектроскопии не дают прямого ответа на вопрос о том, взаимодействуют ли «избыточные» моноклональные белки только между собой или же они могут также связываться с полноразмерными иммуноглобулинами. Мы предполагаем, что имеют место оба типа взаимодействия.

*С.А. Полозкова, В.А. Горбунова, Н.Ф. Орел, А.Е. Кузьминов, А.С. Одинцова, Г.С. Емельянова, А.А. Маркович*

#### ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ТОКСИЧНОСТЬ КОМБИНАЦИИ АРАНОЗЫ С ДОКСОРУБИЦИНОМ ПРИ МЕТАСТАТИЧЕСКИХ НЕЙРОЭНДОКРИННЫХ НЕОПЛАЗИЯХ

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

**Введение.** Нейроэндокринные неоплазии (НЭН) — новообразования, которые происходят из клеток диффузной эндокринной системы и способны продуцировать различные биологически активные вещества. Ограниченный спектр эффективных и доступных препаратов для лечения метастатических форм, их невысокая эффективность и проблема переносимости диктуют необходимость поиска и изучения новых эффективных режимов химиотерапии.

**Цель исследования** — оценить эффективность и безопасность режима химиотерапии араноза + доксорубицин в 1–4-й линиях лечения метастатических НЭН различной локализации.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 26 больных с метастатическими НЭН различной локализации (панкреатические НЭН — у 13 пациентов, непанкреатические — у 12 и НЭН без выявленного первичного очага — у 1) в возрасте от 23 до 76 лет (медиана 48 лет), получивших режим араноза 500 мг/м<sup>2</sup> внутривенно в 1-й и 2-й дни + доксорубицин 40 мг/м<sup>2</sup> внутривенно на 3-й день, каждые 3–4 нед. Высокодифференцированные нейроэндокринные опухоли (ВД НЭО) диагностированы у 21 пациента, низкодифференцированные нейроэндокринные карциномы (НД НЭК) — у 4 больных. В процессе исследования оценивали частоту объективного ответа (по шкале RECIST, версия 1.0), биохимический ответ (нормализация/снижение на 50 % и более уровня хромографина А), медиану выживаемости без прогрессирования (по методу Каплана — Майера) и токсичность (шкала NCI-CTCAE, версия 3.0).

**Результаты.** Суммарно 26 больным было проведено 163 курса химиотерапии. Объективный ответ зарегистрирован у 19 % (5/26) пациентов, из них у 4 больных диагностированы ВД НЭО поджелудочной железы и у 1 — НД НЭК тимуса; стабилизация опухолевого процесса — у 69 % (18/26); прогрессирование — у 12 % (3/26). У 63 % (12/19) пациентов зафиксирован биохимический ответ. Отдаленные результаты лечения оценены у 23 больных, у 3 проследить течение заболевания не удалось. Медиана выживаемости

без прогрессирования составила 15 мес (95 % доверительный интервал 4,3–24). Из побочных явлений чаще всего отмечалась гематологическая токсичность — преимущественно I и II степени. Токсичность III–IV степени наблюдалась у 8 пациентов: тромбоцитопения — у 1, нейтропения — у 4, лейкопения — у 2 и гипербилирубинемия — у 1.

**Заключение.** Применение режима араноза + доксорубицин при метастатических НЭН обеспечивает хороший контроль над ростом опухоли (88 %) и не сопровождается выраженной клинически значимой токсичностью.

*Н.В. Полуконова<sup>1</sup>, Н.А. Наволокин<sup>1</sup>, Д.А. Мудрак<sup>1</sup>, А.И. Прилепский<sup>2</sup>, А.А. Широков<sup>2</sup>, А.Б. Бучарская<sup>1</sup>, Г.Н. Маслякова<sup>1</sup>*

#### ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА АВРАНА ЛЕКАРСТВЕННОГО И КВЕРЦЕТИНА НА КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЕ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

*<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «СГМУ им. В.И. Разумовского»*

*Минздрава России, Саратов;*

*<sup>2</sup>ФГБУН ИБФРМ РАН, Саратов*

**Цель исследования** — сравнить цитотоксическую активность экстракта аврана лекарственного и отдельно входящего в его состав кверцетина в экспериментах *in vitro*.

**Материалы и методы.** Для исследования использован флавоноидсодержащий экстракт из сырья аврана лекарственного, полученный разработанным нами способом, химический состав которого описан ранее (количество кверцетина в сухом остатке экстрактивных веществ (получаемого из 10 г сухой травы аврана), установленное методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, составило не менее 350 мкг). Исследование проводили на клеточной культуре рака шейки матки HeLa из криобанка коллекции клеточных культур Института цитологии РАН. Культивирование выполняли в пластиковых флаконах в среде RPMI-4 (10 % эмбриональной сыворотки, гентамицин, ампициллин, амфотерицин). Эксперименты проводили в культуральных планшетах. Контролем служили клетки в питательной среде без добавления экстракта, выросшие в течение суток. Анализировали следующие концентрации экстракта аврана: 24; 12; 6; 3; 1,5; 0,75; 0,375 мг/мл и кверцетина: 0,1584; 0,0792; 0,0396; 0,0198; 0,0099; 0,00495; 0,002475 мг/мл, соответствующие его содержанию в экстракте. В качестве красителя использовали йодистый пропиций, проникающий в клетки через поврежденные мембраны.

**Результаты.** При концентрации экстракта аврана 0,375 и 0,75 мг/мл процент погибших клеток достоверно увеличивается ( $p < 0,005$ ) в 5–6 раз, а при дальнейшем увеличении концентрации в 2 раза (1,5 мг/мл) — в 11 раз. При минимальной из исследованных концентраций кверцетина (0,002475 мг/мл) процент погибших клеток достоверно меньше, чем в контрольной группе. С повышением концентрации кверцетина процент погибших клеток достоверно увеличивается в 2–4 раза.

**Заключение.** Таким образом, при низких концентрациях кверцетина проявляет протекторные свойства и уменьшает процент погибших клеток HeLa, при увеличении

концентрации с 0,0396 мг/мл процент погибших клеток увеличивается, не достигая при этом активности экстракта аврана. Следовательно, противоопухолевая активность экстракта аврана лекарственного, по-видимому, обусловлена не только содержанием в нем кверцетина. Необходимо проведение более детального анализа химического состава экстракта и дополнительных исследований по изучению противоопухолевой активности и других фракций, входящих в экстракт.

*Н.В. Полуконова<sup>1</sup>, А.Б. Бучарская<sup>1</sup>, Н.А. Наволокин<sup>1</sup>, М.А. Барышников<sup>2</sup>, Д.А. Хоченков<sup>2</sup>, Э.Ш. Соломко<sup>2</sup>, О.О. Рябая<sup>2</sup>, Г.Н. Маслякова<sup>1</sup>, А.Ю. Барышников<sup>2</sup>, Б.Н. Хлебцов<sup>3</sup>, Н.Г. Хлебцов<sup>3</sup>*

#### ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЗОЛОТЫХ НАНОСТЕРЖНЕЙ НА КЛЕТКИ КУЛЬТУРЫ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ SK-BR-3

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «СГМУ им. В.И. Разумовского»

Минздрава России, Саратов;

<sup>2</sup>ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

<sup>3</sup>ФГБУН ИБФРМ РАН, Саратов

**Введение.** В ближайшем будущем золотые наночастицы могут стать эффективными терапевтическими агентами в лечении различных заболеваний, в том числе и онкологических. Важным условием применения в онкологии новых материалов, в частности золотых наностержней (ЗНС), является всестороннее изучение их влияния на опухолевые клетки.

**Цель исследования** — изучить влияние ЗНС через 24 ч в эксперименте на клеточной культуре рака молочной железы SK-BR-3.

**Материалы и методы.** В работе использовали раствор пегилированных ЗНС длиной  $41 \pm 8$  нм и диаметром  $10,2 \pm 2$  нм (концентрация золота 400 мкг/мл), синтезированных в лаборатории нанобиотехнологии ИБФРМ РАН. Использовали культуру опухолевых клеток человека — карциному молочной железы SK-BR-3. Анализировали клетки, окрашенные флуоресцентным красителем Hoechst, используя показатели: среднее число клеток в поле зрения, активность роста культуры, % клеток в митозе от общего числа, % клеток в апоптозе от общего числа, а также учитывали стадии митоза.

**Результаты.** В контроле клетки культуры карциномы молочной железы человека SK-BR-3 имели четко очерченное ядро, в ряде случаев встречались митозы на разных стадиях до 5 в полях зрения. При воздействии ЗНС через 24 ч в культуре не наблюдали изменения количества клеток по сравнению с контролем, что свидетельствует об отсутствии как цитотоксического, так и стимулирующего рост культуры эффекта. Вместе с тем если в контроле наблюдали клетки в состоянии деления на стадиях мета- и анафазы, то при воздействии ЗНС выявлены клетки только в состоянии ранней профазы или поздней телофазы, что свидетельствует о возможном цитостатическом эффекте. Появления клеток в состоянии апоптоза также не было обнаружено.

**Заключение.** Таким образом, пегилированные ЗНС *in vitro* не оказывали цитотоксического воздействия на клетки карциномы молочной железы SK-BR-3. Перспективно

дальнейшее исследование противоопухолевой активности ЗНС при изменении условий и длительности эксперимента.

*А.В. Пономарёв<sup>1</sup>, А.Е. Бармашов<sup>1</sup>, А.М. Дёмин<sup>2</sup>, О.С. Бурова<sup>1</sup>, Н.В. Голубцова<sup>1</sup>, И.М. Лученко<sup>1</sup>, М.А. Барышников<sup>1</sup>, В.П. Краснов<sup>2</sup>*

#### МАГНИТНАЯ СЕПАРАЦИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СУПЕРПАРАМАГНИТНЫХ ЧАСТИЦ С АНТИТЕЛАМИ ISO406 К CD117

<sup>1</sup>ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБУН «ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН», Екатеринбург

**Введение.** CD117 (C-kit) — трансмембранный протоонкогенный белок, относящийся к тирозинкиназным рецепторам III типа. CD117 встречается на многих типах опухолей человека, в частности в злокачественных новообразованиях желудочно-кишечного тракта, почки, остеосаркоме, меланоме. Был разработан метод иммобилизации антител ISO406 на магнитные наночастицы (МНЧ) на основе  $Fe_3O_4$  для магнитной сепарации CD117<sup>+</sup>-популяций опухолевых клеток.

**Цель исследования** — подтвердить возможность использования синтезированных наноконъюгатов МНЧ и антител ISO406 для выделения CD117<sup>+</sup>-клеток.

**Материалы и методы.** Конъюгацию МНЧ и ISO406 проводили при использовании 1-этил-3-(3-диметиламинопропил) карбодиимида в фосфатном буферном растворе (PBS). В результате были получены суспензии МНЧ в PBS (МНЧ-ISO406-1) и воде (МНЧ-ISO406-2). Для проверки полученных в работе МНЧ использовали CD117<sup>+</sup> клеточную линию меланомы человека mel Koc. К клеткам добавляли МНЧ-ISO406-1 и МНЧ-ISO406-2. Смесь переносили в колонку MS Column на штативе MACS MultiStand, вставленную в магнит MiniMACS (Miltenyi Biotec). В качестве контроля использовали клетки без частиц. После выхода раствора из колонки ее снимали с магнита и смывали задержавшиеся в ней клетки PBS. Производили подсчет клеток, прошедших через колонку с магнитом и задержавшихся в колонке.

**Результаты.** Маркер CD117 был экспрессирован на 94 % клеток линии mel Koc. При проведении магнитной сепарации клетки, инкубированные с частицами МНЧ-ISO406-1, вышли из колонки с магнитом в количестве 5,7 %, а клетки, инкубированные с частицами МНЧ-ISO406-2, вышли в количестве 9,86 %. Клетки без магнитных частиц вышли из колонки с магнитом в количестве 96,1 %. Частицы состава МНЧ-ISO406-1 проявили выраженную способность к связыванию, с их помощью удалось выделить 100 % CD117<sup>+</sup>-клеток.

**Заключение** Суперпарамагнитные частицы, конъюгированные с антителами ISO406, позволяют выделять CD117<sup>+</sup>-популяцию клеток меланомы с достаточно высоким выходом. Процент клеток, связавшихся с МНЧ, соответствует проценту клеток, имеющих на своей поверхности CD117. Данный факт свидетельствует о высоком качестве частиц с иммобилизованными антителами, а также о надежности и эффективности иммуномагнитной сепарации с ними.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 14-03-00146-а) и УрО РАН (№ 15-21-3-6).*