

1,1–124,1) и было эффективнее раствора ЦП 5,5 мг/кг (ОР 1,10 (0,37–3,27), $p = 0,861$). Использование гидрогеля ЦП 8,0 мг/кг характеризовалось тенденцией влияния на риск наступления летального исхода от прогрессирования опухолевого процесса (ОР 4,88 (95 % ДИ 0,86–27,61), $p = 0,07331$), в то время как использование раствора ЦП 8,0 мг/кг не влияло на данный показатель (ОР 0,71 (0,25–2,05), $p = 0,532$).

Заключение. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют об ингибирующем эффекте исследованных гидрогелевых форм ЦП при их интраперитонеальном применении на рост и прогрессирование асцитной гепатомы Зайдела, что является основанием для продолжения исследований.

*О.Ю. Рыбалкина^{1,2}, Е.П. Зуева¹, Л.Н. Зибарева²,
А.А. Бадулина², Т.Г. Разина¹, Е.Н. Амосова¹,
К.А. Лопатина^{1,2}, Е.А. Сафонова¹, Е.П. Федорова¹*
**ЭКДИСТЕРОИДЫ В ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ**

¹ФГБНУ «НИИФУРМ им. Е.Д. Гольдберга», Томск;
²НИ ТГУ, Томск

Введение. Применение цитостатиков сопровождается высокой токсичностью в отношении активно пролиферирующих клеточных популяций организма, в частности системы гемопоэза, поэтому актуальным является поиск препаратов, снижающих токсические проявления специфического лечения и/или повышающих его эффективность. Перспективными в качестве средств дополнительной терапии опухолевых заболеваний могут быть экдистероидсодержащие лекарственные растения, ярким предшественником которых является род *Silene*, обладающие широким спектром фармакологической активности и отсутствием токсичности.

Цель исследования – изучение влияния экстрактов *S. colpophylla* и *S. viridiflora* на развитие карциномы легких Льюис (Lewis lung carcinoma, LLC) у мышей и эффективность лечения циклофосфаном (ЦФ), оценка их действия на периферическую кровь на фоне цитостатической терапии.

Материалы и методы. LLC перевивали внутримышечно по 5×10^6 клеток. ЦФ вводили мышам однократно внутривенно в дозе 125 мг/кг на 10-е сутки развития опухоли. Экстракты *S. colpophylla* и *S. viridiflora*, предоставленные лабораторией фитохимии Сибирского ботанического сада НИ ТГУ, вводили *per os* в дозах 50 и 100 мг/кг в течение 12 сут. В конце эксперимента (21-е сутки) определяли массу опухоли, вычисляли процент торможения ее роста, частоту метастазирования, подсчитывали количество и площадь метастазов в легких. Показатели периферической крови на 3-и сутки после введения ЦФ определяли с помощью гематологического анализатора «Muchic 18vet» (Cormay, Франция). При обработке результатов использовали непараметрические критерии Вилкоксона, Манна – Уитни и углового преобразования Фишера.

Результаты. Обнаружено, что введение ЦФ оказало достоверное ингибирующее влияние на развитие метастазов. Добавление в схему лечения ЦФ экстракта *S. colpophylla* в дозах 50 и 100 мг/кг вызвало повышение противоопухолевого эффекта терапии, при этом торможение роста опухоли составило 49 и 46 % соответственно. Аналогичные эффекты наблюдались при сочетанном назначении мышам экстракта *S. viridiflora* в дозах 50 и 100 мг/кг с ЦФ. При оценке действия

экстрактов на периферическую кровь обнаружено, что цитостатик оказал ингибирующее действие на клетки периферической крови мышей с LLC. Включение экстрактов в схему химиотерапии не изменило ингибирующего влияния ЦФ на клетки миелоидного и эритроидного ростков кроветворения, однако повысило содержание тромбоцитов в 2 раза в периферической крови животных с LLC ($p < 0,05$).

Заключение. Включение экстрактов *S. colpophylla* и *S. viridiflora* в схему химиотерапии приводит к повышению противоопухолевого действия ЦФ, а также препятствует развитию тромбоцитопении в периферической крови животных с LLC.

*О.О. Рябая^{1,2}, А.А. Малышева¹, А.В. Егорова²,
Ю.А. Хоченкова¹, Е.В. Степанова¹, Д.А. Хоченков¹*
**ИНГИБИРОВАНИЕ АУТОФАГИИ ПОТЕНЦИРУЕТ
ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ ТЕМОЗОЛОМИДА IN VITRO
НА КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ МЕТАСТАТИЧЕСКОЙ
МЕЛАНОМЫ**

¹ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;
²ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова»

Минздрава России, Москва

Введение. В последние десятилетия большое внимание уделяется лечению метастатической меланомы (ММ) кожи, но несмотря на достигнутые успехи, прогноз течения болезни остается неблагоприятным (средняя выживаемость пациентов с ММ кожи в мире составляет 8–10 мес). Активно изучаются новые комбинации и пути лечения. Ингибирование процесса аутофагии, позволяющего опухолевым клеткам преодолевать неблагоприятные условия, во многих доклинических исследованиях показало положительный эффект на регрессию опухолей и увеличение продолжительности жизни пациентов.

Цель исследования – изучить влияние ингибиторов аутофагии (хлорокина (CQ) и LY-294002) на цитотоксичность темозоломида (TMZ) на клеточных линиях ММ кожи *in vitro*.

Материалы и методы. Были использованы клеточные линии ММ кожи, полученные от пациентов РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Цитотоксичность оценивали МТТ-тестом, иммуноцитохимически, уровень апоптоза определяли методом двойного окрашивания аннексином V/пропидий йодидом с помощью проточной цитометрии. Исследования аутофагии проводили посредством вестерн-блоттинга и трансфекцией микро-рибонуклеиновой кислоты (миРНК) к белку Beclin 1 клеточных линий либо при использовании ингибиторов аутофагии CQ и LY-294002.

Результаты. Для исследования влияния CQ на цитотоксичность TMZ последний был взят в нетоксических концентрациях (100–200 мкМ). МТТ-тестом показано, что CQ усиливает действие TMZ, приводя к увеличению гибели клеток ММ в среднем на 20 %, клетки с мутацией в кодоне 600 гена *B-RAF* были более чувствительны к комбинации CQ и TMZ. Анализ запуска апоптоза после 24-часовой инкубации с препаратами показал, что уровень апоптоза не зависел от статуса гена *B-RAF*: TMZ (500 мкМ) в монорежиме вызывал гибель 3–8 % клеток. Однако под действием CQ возрастало количество апоптотических клеток до $17,5 \pm 2,9$ % у *B-RAF*⁶⁰⁰ клеток, а у *B-RAF*^{wt} их уро-

вень практически не менялся ($5,2 \pm 3,0$ %). Также комбинация CQ и TMZ увеличивала количество белка LC3B (маркера уровня аутофагосом) по сравнению с контролем и препаратами в монорежиме. Ингибирование аутофагии за счет миРНК снижало токсическое действие на клетки ММ самого CQ. Аналогичные данные были получены при добавлении ингибитора образования аутофагосом LY-294002. Стоит отметить, что при коинкубации клеток с 2 ингибиторами одновременно отмечали увеличение цитотоксичности TMZ: выживаемость клеток ММ уменьшалась с 80 до 30 %. Таким образом, можно предположить, что аутофагия предохраняет клетки от темозоломидиндуцированной цитотоксичности.

Заключение. Полученные результаты демонстрируют, что CQ и LY-294002 ингибируют аутофагию в клетках ММ и способствуют увеличению их химиочувствительности к TMZ. Данные комбинации можно считать перспективными, требующими дальнейшего изучения, в том числе в опытах *in vivo*.

Работа поддержана грантом РФФ № 14-35-00107 от 17.09.2014.

*А.В. Савельева¹, Е.В. Кулигина¹, Е.Д. Чикова²,
В.В. Козлов³, В.А. Рихтер¹, Д.В. Семенов¹*

ТРАНСКРИПТОМ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ КОМПЛЕКСОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

¹ФГБУН ИХБФМ СО РАН, Новосибирск;

²ЦНМТ, Новосибирск;

³ГБУЗ НСО НОКОД, Новосибирск

Введение. Большинство клеток организма человека выделяют 3 основных типа внеклеточных циркулирующих комплексов: микровезикулы, экзосомы и свободные рибонуклеопротеиновые комплексы, каждый из которых несет характерный набор РНК, отличный от продуцирующих их клеток. РНК циркулирующих комплексов, высвободившиеся после интернализации, способны оказывать регуляторное воздействие на клетки-реципиенты, что указывает на их участие в процессах дистантного межклеточного взаимодействия и может быть использовано для оценки физиологического состояния организма. Большая часть исследований транскриптома циркулирующих комплексов посвящены изучению микроРНК в составе экзосом и проведены для секретома культивируемых клеток человека.

Цель исследования – описание всего многообразия форм РНК в составе микровезикул, экзосом и рибонуклеопротеиновых комплексов плазмы крови человека методом высокопроизводительного секвенирования.

Материалы и методы. Экзосомы, микровезикулы и свободные рибонуклеопротеиновые комплексы были получены путем последовательного центрифугирования образцов плазмы крови здоровых доноров и пациентов с раком легкого (плоскоклеточный рак легкого и аденокарцинома) при 16000 и 160000 g. Суммарная РНК полученных субфракций плазмы крови (осадков мембранных частиц и финального супернатанта) и форменных элементов крови была выделена с помощью реагента Trizol и проанализирована методом массового параллельного секвенирования на платформе SOLiD 5500xl. Данные обрабатывали с использованием программного обеспечения Bowtie/Cufflinks путем последовательного выравнивания полученных по-

следовательностей с последовательностями: митохондриальных транскриптов; транскрибируемых повторов человека; РНК человека из базы данных human RefSeq; генома человека версии hg19. Различия в представленности транскриптов в составе циркулирующих комплексов плазмы крови оценивали с помощью пакета программ Cuffdiff.

Результаты. Для каждой комплементарной ДНК библиотеки было получено ~ 14 млн экспериментальных последовательностей. Показано, что для мембранных частиц, осаждаемых при 160000 g, в сравнении с остальными субфракциями плазмы крови и клетками крови характерно обогащение фрагментами мРНК (такими как KRTAP10–5, TSHB, IK, PMP22, HOXB8, OR9Q2, UCHL3) и некодирующих РНК (RNU11, микроРНК). Для частиц, осаждаемых при 16000 g, показано повышенное содержание определенного набора форм микроРНК, малых ядрышковых РНК и vault РНК.

Заключение. В совокупности с данными литературы полученные результаты указывают на то, что исследованные типы циркулирующих комплексов плазмы крови человека отличаются не только определенным набором микроРНК, но и других классов РНК, представленных в клетке, что может быть использовано для разработки новых подходов к ранней диагностике и терапии заболеваний человека.

Работа поддержана грантом РФФИ № 16-04-01457.

*Н.С. Сапрыкина¹, М.А. Барышникова¹, В.П. Краснов²,
В.М. Бухман¹, А.Ю. Барышников¹*

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ОРМУСТИНА НА РАЗВИВШИХСЯ ПЕРЕВИВАЕМЫХ ОПУХОЛЯХ МЫШЕЙ

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

²ФГБУН «ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН»,

Екатеринбург

Введение. Значительная доля онкологических пациентов – больные с распространенными формами опухолевого процесса, поэтому актуально расширение арсенала эффективных при таких стадиях заболевания средств химиотерапии. В ИОС им. И.Я. Постовского (УрО РАН, Екатеринбург) синтезировано новое соединение алкилнитрозокарбамоил, производное аминокислоты L-орнитина – Ормустин. В лаборатории разработки лекарственных форм НИИ ЭДиТО РОНЦ им. Н.Н. Блохина создана лекарственная форма «Ормустин, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций 125 мг».

Цель исследования – оценить влияние нового потенциального противоопухолевого препарата из класса нитрозомочевин Ормустина на рост развившихся перевиваемых опухолей мышей.

Материалы и методы. Противоопухолевое действие Ормустина изучали на мышцах гибридах BDF1 (C57Bl/6*DBA/2) с подкожно привитыми опухолями различного гистогенеза: меланомой В16, меланомой В16 сублинии F10 (В16-F10), меланомой Клаудмана (М3), эпидермоидной карциномой легкого Льюис (LLC), раком легкого РЛ-67. При достижении среднего объема подкожного опухолевого узла (V_{cp}) ≈ 1000 – 2000 мм³ (7–12-е сутки опыта) мышам вводили однократно внутривенно Ормустин в дозах 100–150 мг/кг.