

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 мРНК 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 секрета 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 B16, меланомой B16 сублинии F10 (B16-F10), меланомой Клаудмана (M3), эпидермоидной карциномой легкого Льюис (LLC), раком легкого РЛ-67. При достижении среднего объема подкожного опухолевого узла (V_{cp}) $\approx 1000\text{--}2000$ мм³ (7–12-е сутки опыта) мышам вводили однократно внутривенно Ормустин в дозах 100–150 мг/кг.

Терапевтический эффект оценивали по стандартным критериям экспериментальной химиотерапии.

Результаты. Ормустин значительно и продолжительно ингибировал рост перевиваемых в далеко зашедшей стадии развития опухолей мышей. Наиболее чувствительными к действию препарата были меланомы. У мышей с меланомой В16 (V_{cr} на начало лечения (8-е сутки) $\approx 1000 \text{ мм}^3$) Ормустин значительно и продолжительно (при оценке по V_{cr} — на 52–88 %; при оценке по средней массе опухоли (на 21-е сутки) — на 48–58 %) ингибировал рост опухоли. Наиболее сильное и длительное дозозависимое ингибирующее действие Ормустин проявил при лечении мышей с меланомой В16-F10 (V_{cr} при начале лечения на 7-е сутки $\approx 1000 \text{ мм}^3$). Препарат дозозависимо вызвал значительную регрессию опухоли (до полного исчезновения видимого подкожного узла у всех мышей в группе), однако затем рост опухолей возобновился. У мышей с меланомой М3 (V_{cr} на начало лечения (12-е сутки) $\approx 1600 \text{ мм}^3$) Ормустин также вызывал замедление роста опухоли (на 52–61 %). При лечении животных с LLC (V_{cr} на 11-е сутки $\approx 2000 \text{ мм}^3$) Ормустин дозозависимо и длительно ингибировал рост карциномы (на 64–84 %). Наиболее устойчив к действию препарата был РЛ-67 (V_{cr} при начале лечения (9-е сутки) $\approx 900 \text{ мм}^3$). Ормустин кратковременно ингибировал (на 50–72 %) рост РЛ-67.

Заключение. Ормустин обладает высоким противоопухолевым эффектом в отношении перевиваемых в далеко зашедшей стадии развития опухолей различного гистогенеза.

Работа выполнена в рамках государственного контракта № 13411.1008799.13.163 от 12.07.2013 «Доклинические исследования противоопухолевого лекарственного средства класса нитрозомочевин».

К.Н. Саунина, Л.Н. Николаевич

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МТТ-ТЕСТА
В ПРОГНОЗИРОВАНИИ
ХИМИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КЛОНОГЕННЫХ
ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ЭПЕНДИМОМЫ ЧЕЛОВЕКА**
ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск,
Республика Беларусь

Введение. Роль гетерогенности опухоли в прогрессии и лекарственной устойчивости злокачественных новообразований практически не учитывается в клинической практике как прогностический (связанный с исходом заболевания) или предиктивный (предсказывающий непосредственную эффективность химиотерапии) маркер. Хотя вопрос о терапии гетерогенных новообразований остается открытым, одним из подходов, позволяющих преодолеть проблему внутриопухолевой неоднородности и оценки индивидуальной чувствительности, является диагностика чувствительности клоногенных клеток к лекарственным средствам.

Цель исследования — изучить чувствительность клоногенных клеток эпендимомы человека к цисплатину.

Материалы и методы. Методом культивирования *in vitro* были выделены опухолевые клетки из фрагмента ткани эпендимомы (послеоперационный материал) в первичную культуру, а затем методом клонирования *in vitro* была выделена популяция опухолевых клоногенных клеток эпендимомы. Цитотоксичность цисплатина в дозах 50, 100, 200,

300, 350, 400, 450 и 500 мкг/мл (конечные дозы в лунках на порядок ниже соответственно) определяли с помощью МТТ-теста. После инкубации клеток с цисплатином (72 ч) в каждую лунку добавляли 10 мкл МТТ (бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия) (5 мг/мл) и планшеты дополнительно инкубировали в течение 4 ч. Далее из планшетов удаляли среду и в каждую лунку добавляли по 150 мкл диметилсульфоксида для растворения образовавшихся кристаллов формазана. С помощью ридера для иммуоферментного анализа (ChemWell) определяли оптическую плотность при 505 нм.

Результаты. Сравнительный анализ выживаемости опухолевых клеток и клоногенных клеток эпендимомы показал, что при воздействии цисплатина в дозе 50 мкг/мл наблюдается высокая доля жизнеспособных клеток (63–64 %). По мере увеличения дозы цисплатина выживаемость клеток снижается в 2–3 раза. Эффективной дозой цисплатина для опухолевых клеток эпендимомы является доза 100 мкг/мл, а для клоногенных клеток — 100, 200 и 500 мкг/мл.

Заключение. В клинической практике для оценки чувствительности клоногенных клеток эпендимомы целесообразно использовать МТТ-тест с целью назначения химиотерапии больным после хирургического удаления опухоли головного мозга.

Е.А. Сафонова¹, К.А. Лопатина^{1,2}, А.М. Гурьев³,

Е.П. Федорова¹, Т.Г. Разина¹ Е.П. Зуева¹

**ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ И СНИЖЕНИЕ
ТОКСИЧНОСТИ КОМБИНАЦИИ ЦИСПЛАТИНА
И ЭТОПОЗИДА С ПОМОЩЬЮ ПОЛИСАХАРИДОВ
TUSSILAGO FARFARA L.**

¹ФГБНУ «НИИ ФирМ им. Е.Д. Гольдберга», Томск;

²НИ ТГУ, Томск;

³ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России, Томск

Введение. Комбинация противоопухолевых препаратов «цисплатин + этопозид» является стандартным режимом химиотерапии для пациентов с мелкоклеточным раком легкого. Полисахариды *Tussilago farfara* L. (мать-и-мачехи обыкновенной) повышают эффективность и снижают токсичность цитостатиков различного механизма действия при монотерапии (экспериментальные данные) и могут стать перспективными составляющими схем комбинированного лечения опухолей.

Цель исследования — изучение возможности снижения гематологической токсичности и повышения эффективности комбинации цисплатина и этопозид с помощью полисахаридов *Tussilago farfara* L.

Материалы и методы. Использованы мыши-самки линии С57В1/6 с перевитой внутримышечно карциномой легких Льюис. Цисплатин и этопозид в дозах 2,5 и 5 мг/кг соответственно вводили внутривенно, 3-кратно на 10, 12 и 14-е сутки после перевивки, последовательно через 10–20 мин. Полисахариды *Tussilago farfara* L. мыши получали внутривенно, с 7-х суток после перевивки опухоли в дозе 20 мг/кг. Забор крови произведен на 1-е сутки после второго и третьего введения цитостатиков. Эффективность лечения оценивали, определяя массу опухоли, процент торможения ее роста, частоту метастазирования, количество и площадь метастазов в легких. Возможность