

(так называемые интраэпителиальные неоплазии вульвы) и раком вульвы. Из них у 13 (30,9 %) пациенток был диагностирован крауроз вульвы, у 8 (19,1 %) — интраэпителиальные неоплазии вульвы I–III степени, у 21 (50 %) — плоскоклеточный рак. Все пациентки были разделены на 2 группы: в 1-й ($n = 29$) препарат на основе хлорина еб (фотолон) вводили внутривенно капельно в дозе 1 мг/кг массы тела; во 2-й ($n = 13$) препарат на основе 5-аминолевулиновой кислоты (аласенс) наносили аппликационно в виде 20 % мази. Длительность лечения составляла 20–40 мин. Плотность энергии — 100–350 Дж/см.

Результаты. Лечебный эффект после ФДТ при патологии вульвы оценивался визуально, субъективно (отсутствие жалоб на зуд) и по данным цитологического или морфологического исследования через 3–6 мес после ФДТ. Положительный лечебный эффект был достигнут у всех пациенток через 3 мес. Полная клиническая ремиссия через 1 год после проведения сеанса ФДТ была достигнута у 40 (95,2 %) больных. У 2 (4,7 %) пациенток было проведено повторное лечение в связи с рецидивом заболевания. У 1 пациентки с диагнозом дисплазии вульвы III степени через 1 год по данным гистологического исследования диагностирована дисплазия вульвы II степени, и у 1 больной с дистрофическим заболеванием вульвы (крауроз) через 6 мес зарегистрированы клинические проявления болезни (зуд) и гиперкератоз плоского эпителия по данным гистологического исследования. Побочные проявления заключались в болевом синдроме после проведения ФДТ, который купировался приемом нестероидных противовоспалительных средств.

Заключение. Таким образом, полученные результаты ФДТ с использованием препаратов фотолон и аласенс при лечении пациенток с дистрофическими изменениями, интраэпителиальными неоплазиями и раком вульвы показали высокую лечебную эффективность с минимальным количеством побочных эффектов и отсутствием осложнений после проведенного лечения. Метод ФДТ позволил выполнить органосохраняющее лечение у больных с заболеваниями вульвы без ухудшения качества их жизни.

А.А. Фильченков¹, М.П. Завелевич¹,

С.Л. Рыбалко², Д.Б. Федорченко², Д.Ю. Блохин³

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ВИРУСАМ РАЗНЫХ ТАКСОНОМИЧЕСКИХ ГРУПП КЛЕТОК JURKAT/A4 С ФЕНОТИПОМ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ

¹ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев, Украина;

²НИИ эпидемиологии и инфекционных заболеваний АМН Украины, Киев, Украина;

³ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. В лейкозных клетках с фенотипом множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) апоптотический ответ при действии химиотерапевтических препаратов существенно снижен. Использование моделей лейкозных клеток со стабильным фенотипом МЛУ позволяет анализировать механизмы, препятствующие запуску в них программы апоптоза. Вместе с тем апоптоз, как известно, является одним из механизмов цитопатогенного действия многих вирусов. Определение чувствительности к вирусам

клеток с фенотипом МЛУ позволяет расширить наши представления о роли различных компонентов системы апоптоза как в реализации МЛУ, так и в развитии цитопатогенного эффекта при действии вирусов.

Цель исследования — сравнить чувствительность клеток линии Jurkat и ее клональной сублинии Jurkat/A4 с фенотипом МЛУ к вирусу простого герпеса (ВПГ), вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ) и вирусу диареи крупного рогатого скота (BVDV).

Материалы и методы. Линии клеток Jurkat, Vero, MT-4 и MDBK получены из банка клеточных линий ИЭПОР НАНУ. Клональная сублиния Jurkat/A4, полученная селекцией при действии на клетки Jurkat агонистических анти-CD95-антител, была предоставлена авторами. В работе использованы штамм ВН ВПГ 2-го типа и ВИЧ-1, продуцируемый клетками культуры MT4/BPII (НИИ вирусологии им. Д.И. Иванковского), BVDV (Институт ветеринарной медицины УААН). Вирусами заражали культуры Jurkat и Jurkat/A4, после чего определяли титр вирусов по цитопатогенному действию на чувствительных линиях клеток Vero (для ВПГ через 72 ч) и MDBK (для BVDV через 24 ч). О репродукции ВИЧ судили по уровню p24 в культуральной жидкости, после чего определяли инфекционный титр ВИЧ на чувствительных клетках MT-4 на 5-е сутки. Содержание гиподиплоидных клеток и клеток с активной формой каспазы-3 определяли с помощью цитофлуориметра FACSCalibur (Becton Dickinson, США) и набора Caspase-3, Active Form, mAb Apoptosis Kit: FITC (BD Bioscience Pharmingen, США).

Результаты. Инфекционные титры исследуемых вирусов оказались следующими: ВПГ — 4,0 lgID₅₀ в клетках Jurkat и 5,5 lgID₅₀ в клетках Jurkat/A4; BVDV — 3,0 lgID₅₀ в клетках Jurkat и 4,0 lgID₅₀ в клетках Jurkat/A4; ВИЧ — 3,0 lgID₅₀ в клетках Jurkat и 3,0 lgID₅₀ в клетках Jurkat/A4. Инфицирование ВПГ увеличивало содержание гиподиплоидных клеток и клеток с активной формой каспазы-3 в равной степени в линиях Jurkat и Jurkat/A4.

Заключение. Клетки Jurkat и Jurkat/A4 оказались чувствительными к инфицированию ВПГ, ВИЧ и BVDV. При этом клетки Jurkat/A4 с фенотипом МЛУ более чувствительны к инфицированию ВПГ и BVDV в сравнении с клетками исходной линии Jurkat. Индукция каспазозависимой гибели клеток Jurkat/A4 при продуктивной инфекции ВПГ свидетельствует об активации в них эффекторных механизмов апоптоза.

Ю.П. Финашутина, В.А. Мисюрин, Е.Н. Пушкова,

Н.А. Лыжко, В.В. Тихонова, О.Н. Солопова, А.В. Мисюрин

ЭКСПРЕССИЯ И ОЧИСТКА РЕКОМБИНАНТНОГО РАКОВО-ТЕСТИКУЛЯРНОГО АНТИГЕНА GAGE1

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

Введение. Белки семейства GAGE насчитывают около 16 членов и относятся к раково-тестикулярным антигенам, экспрессирующимся в различных опухолях. Экспрессия белков GAGE у здоровых людей происходит только в семенниках, однако было обнаружено, что активация экспрессии группы генов GAGE может происходить при различных раковых заболеваниях, и их экспрессия коррелирует с плохим прогнозом у больных раком желудка, раком пи-

щевода и нейробластомой. Пептиды этих белков распознаются цитотоксическими Т-лимфоцитами в комплексе с молекулой HLA. Кроме того, антитела к белкам семейства GAGE обнаруживаются в сыворотке больных меланомой, раком толстой кишки и Т-клеточными лимфомами. Таким образом, белки GAGE могут быть подходящими мишенями для специфической иммунотерапии. Разработка препаратов рекомбинантных белков является перспективным направлением в иммунотерапии, так как в отличие от пептидов полноразмерные белки могут стимулировать как CD4-, так и CD8-лимфоциты, и не зависят от подтипа HLA пациента.

Цель исследования — получить высокоочищенный рекомбинантный раково-тестикулярный белок GAGE1.

Материалы и методы. Кодированная последовательность гена была получена с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией; в качестве матрицы использовали выделенную рибонуклеиновую кислоту из линии клеток эритромиелоидного лейкоза K562. Кодированная последовательность гена была клонирована в плазмиду pET-30a, и белок был экспрессирован в штамме *Escherichia coli* BL21 (DE3) pLysS. Нуклеотидная последовательность всех элементов плазмиды и гена *GAGE1* подтверждена секвенированием. Рекомбинантный белок GAGE1 был очищен с помощью металл-аффинной хроматографии.

Результаты. Нами была получена плаزمиды для экспрессии гена *GAGE1* в бактериальных клетках на основе вектора pET-30a. Рекомбинантный белок GAGE1 был экспрессирован под контролем индуцируемого промотора в суспензионной культуре клеток *E. coli*. Были подобраны условия для оптимальной экспрессии и очистки белка из бактериальных клеток. Выход целевого продукта составил 6 мг/л бактериальной культуры. Согласно данным электрофореза, масса полученного продукта составила примерно 24 кДа, что соответствует массе природного белка GAGE1. Чистота рекомбинантного белка также оценивалась по электрофореграмме и составила 95 %.

Заключение. Получен бактериальный продуцент рекомбинантного человеческого антигена GAGE1. Очищенный белок GAGE1 может быть использован для широкого спектра исследований в онкологии и иммунологии, например для получения специфических антител. На основе рекомбинантного белка GAGE1 можно создавать противоопухолевые вакцины с применением адъювантов или дендритных клеток. Кроме того, с помощью этого белка можно оценивать специфический гуморальный ответ в сыворотке крови онкологических больных.

Ю.М. Фоменко¹, Н.А. Кабилдина¹, И.М. Омарова², Г.Х. Тулеуова³, С.С. Жумакаева¹, В.Б. Сирота¹

НЕПОСРЕДСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ АРГЛАБИНА ПРИ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹КГМУ, Караганда, Казахстан;

²КГП «Областной онкологический диспансер», Караганда, Казахстан;

³АО МНПХ «Фитохимия», Караганда, Казахстан

Цель исследования — повышение степени доказательности клинической эффективности препарата арглабин

путем проведения рандомизированного клинического исследования.

Материалы и методы. В исследование включены 93 пациента с местно-распространенным раком молочной железы (МРРМЖ) с гистологической и иммуногистохимической верификацией в возрасте от 30 до 75 лет. Все больные разделены на 3 группы: 2 исследуемые, 1 контрольная. В контрольной группе 36 пациентам проводили 4 курса неoadъювантной химиотерапии (ХТ) по схеме АС (доксорубицин — 50 мг/м², циклофосфан — 500 мг/м²) каждые 21 день, радикальную мастэктомию, 4 курса адъювантной ХТ (АС), лучевую терапию и гормональную терапию по показаниям. Исследуемая группа 1 ($n = 30$) получала лечение по аналогичной схеме, только режим ХТ (АС) сочетался с арглабином (арглабин 370 мг/м² в течение 7 дней). Исследуемая группа 2 ($n = 27$) получала лечение по аналогичной схеме, но в неoadъювантном и адъювантном режиме применяли монотерапию арглабином. Клиническую эффективность оценивали по критериям Всемирной организации здравоохранения.

Результаты. Частичный ответ опухоли у больных после ПХТ по схеме АС наблюдали в $58,3 \pm 8,2$ %, после АС с арглабином — в $63,3 \pm 8,8$ %, после монотерапии арглабином — в $25,9 \pm 8,4$ % случаев ($p \geq 0,05$); стабилизацию опухоли соответственно в $38,9 \pm 8,1$ %, $33,3 \pm 8,6$ %, $51,9 \pm 9,6$ %. Степень регрессии опухоли у больных МРРМЖ составила после ХТ по схеме АС $54,6 \pm 6,9$ %, после АС с арглабином — $57,1 \pm 7,9$ %, после монотерапии арглабином — $10,0 \pm 15,1$ %. Степень регрессии метастатических подмышечных лимфатических узлов у пациентов после неoadъювантной терапии по схеме АС составила $39,6 \pm 7,0$ %, после АС с арглабином — $63,7 \pm 14,1$ %, после монотерапии арглабином — $2,9 \pm 20,2$ %. В контрольной группе лекарственный патоморфоз опухоли III и IV степени имели 25 % больных, после неoadъювантной ХТ по схеме АС + арглабин — 33,3 %, после монотерапии арглабином — 14,8 %.

Заключение. Наблюдается общая положительная динамика регрессии опухоли и лимфатических узлов после неoadъювантной ПХТ при ее комбинации с арглабином у больных МРРМЖ.

Д.С. Хачатрян¹, В.А. Мисюрин²,

М.А. Барышникова^{1,2}, В.Н. Осипов^{1,2},

А.Н. Балаев¹, А.В. Колотаев¹, К.Р. Матевосян³

СИНТЕЗ И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СВОЙСТВА НОВЫХ 1,2-ДИГИДРО-4-ХИНАЗОЛИНОВ

¹ФГУП «ИРЕА», Москва;

²ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

³ФГБОУ ВО «РХТУ им. Д.И. Менделеева», Москва

Введение. Интерес к синтезу и изучению свойств производных хиназолинона в последние десятилетия объясняется их разноплановой биологической активностью. В частности, ранее синтезированные Khan-0101 и Khan-0140 подтвердили такую мультиактивность. Соединения SMR000040130 ингибировали рост клеток рака легкого, но при этом проявляли кардио- и нейротоксичность. Ряд полученных 2,3-дигидрохиназолин-4(1H)-онов активны в отношении опухолевых линий клеток HepG2, MCF-7; некоторые производные изоиндоло[2,1-a]-хиназолина являются ингибиторами фак-