

токсичности на крысах: суммарные дозы 300 мг/кг $\approx$ 1,5 максимально переносимой дозы (МПД), 200 мг/кг $\approx$ 1 МПД и 100 мг/кг $\approx$ 1/2 МПД. Продолжительность наблюдения — 45 сут. Исследования местно-раздражающего действия ЛЛФО проведены на 42 кроликах породы шиншилла, полученных из ОПХ «Манихино». ЛЛФО вводили однократно в крайнюю вену уха кролика в рекомендованной концентрации 15,7 мг/мл и в 10 и в 20 раз меньшей.

Результаты. ЛЛФО при трехкратном ежедневном внутривенном применении не вызывала гибели животных, не оказывала влияния на общее состояние животных, не изменяла их поведенческие реакции. ЛЛФО вызывала дозозависимое снижение массы тела животных и аллопецию, уменьшение числа лейкоцитов на 3-и сутки опыта с восстановлением к 7-м суткам; в суммарной дозе 300 мг/кг — уменьшение числа тромбоцитов на 7–14-е сутки наблюдения с восстановлением к 21-м суткам. ЛЛФО вызывала дозозависимое нарушение барьерной функции печени (снижение уровня аланинаминотрансферазы на 3-и сутки наблюдения; в суммарной дозе 300 мг/кг — с неполным восстановлением к концу опыта). ЛЛФО в исследованных дозах оказывала влияние на функцию почек, вызывая на 3-и сутки опыта дозозависимое увеличение содержания мочевины с неполным восстановлением в суммарных дозах 200 и 100 мг/кг с дальнейшим ростом показателя в суммарной дозе 300 мг/кг к 45-м суткам. Кроме того, в суммарной дозе 300 мг/кг в анализе мочи крыс на 15-е и 45-е сутки наблюдения обнаружены гиалиновые цилиндры, а также отмечено увеличение относительной массы почек на 45-е сутки наблюдения. Препарат вызывал дозозависимые качественные изменения показателей электрокардиограммы, проявляющиеся нарушением сердечного ритма (желудочковой экстрасистолей) в суммарной дозе 100 мг/кг на 15-е и 30-е сутки опыта, и появлением патологического комплекса QS в суммарной дозе 300 мг/кг на 3-и и 30-е сутки наблюдения. ЛЛФО вызывала на 3-и сутки дозозависимое уменьшение относительной массы тимуса (с неполным восстановлением к концу опыта) и селезенки (с полным восстановлением к концу опыта). ЛЛФО обладает умеренным местно-раздражающим действием.

Заключение. Полученные результаты позволяют рекомендовать ЛЛФО для дальнейшего изучения.

А.А. Черепанов^{1,2}, А.А. Липенгольц^{1,2}, Е.Ю. Григорьева¹,

А.В. Смирнова¹, В.Н. Кулаков²

СРАВНИТЕЛЬНО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЯ КОНТРАСТНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ РАЗНЫХ СПОСОБОВ ВВЕДЕНИЯ НА МЫШАХ С ТРАНСПЛАНТИРОВАННЫМИ ОПУХОЛЯМИ IN VIVO

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

²ФГБУ ГНЦ «ФМБЦ им. А.И. Бурназяна», Москва

Введение. Для планирования и проведения экспериментальных исследований бинарной лучевой терапии с существующими контрастными препаратами для компьютерной томографии (КТ) и магнитно-резонансной томографии (МРТ) на лабораторных животных необходима информация о биораспределении применяемых препаратов и их динамики.

Принципиальное значение имеет не только интегральное накопление препарата в органах или тканях, но и характер распределения препарата в конкретном органе. Для решения подобной задачи нами было проведено исследование распределения 2 контрастных препаратов для КТ и МРТ на мышах *in vivo* с помощью рентгеновской КТ.

Цель — провести исследование детального биораспределения и его динамики 2 контрастных препаратов у мышей с трансплантированными опухолями *in vivo* для 3 способов введения.

Материалы и методы. Было проведено исследование биораспределения рентгеноконтрастного препарата Ультравист-370 и магнитно-резонансного препарата Дипентаст на мышах. Были использованы мыши-самки линии С57В16 с трансплантированными подкожно в правую заднюю голень опухолями. Исследования проводились для 2 опухолей: меланомы В16F10 и аденокарциномы молочной железы Са755. Исследования проводились на 9–10-е сутки после трансплантации. Были исследованы биораспределения для 3 способов введения: внутрибрюшинного, ретроорбитального и интратуморального. Препараты вводились однократной болюсной инъекцией в объеме 0,1 мл. Исследования проводились на визуализирующей системе IVIS. Томограммы животных снимались до введения препарата, сразу же после введения препарата и в течение 30 мин с интервалом 5 мин.

Результаты. Показано, что биораспределение исследованных контрастных препаратов зависит от способа введения. При ретроорбитальном введении оба препарата быстро поступали в кровенаполненные органы, включая опухоль. После чего наблюдалось выведение из крови с мочей и накопление препаратов в мочевом пузыре. При внутрибрюшинном введении оба препарата медленно всасывались из места введения. Большое количество препаратов наблюдалось в области брюшины и спустя 20 мин после введения. Регистрируемого накопления в опухолях не наблюдалось. При интратуморальном введении также происходило длительное удержание препаратов (более 20 мин) в тканях обеих опухолей и медленное выведение с мочей.

Заключение. Для проведения исследований бинарной лучевой терапии с существующими контрастными препаратами эффективным является ретроорбитальное/внутрибрюшинное введение контрастных препаратов.

Ж.Р. Черкасова¹, С.А. Цуркан¹, Г.Б. Смирнова²,

Ю.А. Борисова², Е.М. Трещалина²

ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРОВ К α -ФЕТОПРОТЕИНУ В ГОМОГЕНАТАХ ОПУХОЛЕЙ ЧЕЛОВЕКА SW620, T47D И В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК NERF2 ИЗ КОЛЛЕКЦИИ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА

¹ООО «ФармАксесс», Москва;

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

Введение. Развитие таргетной терапии злокачественных новообразований невозможно без адекватных моделей опухолевого роста *in vitro* и *in vivo*. В качестве значимых для прогноза эффективности используют, как правило, культуры клеток и/или перевиваемые опухоли человека, растущие в виде подкожных (п/к) ксенографтов у иммунодефицитных мышей. Определение специфической мишени

на таких моделях открывает возможность их использования при доклиническом изучении новых таргетных препаратов, в частности направленных на рецепторы к α -фетопротеину (АФП) (receptors for alfa fetoprotein, ReCAF).

Цель исследования — определение экспрессии ReCAF на опухолевых моделях, предлагаемых для доклинического изучения АФП-содержащих препаратов.

Задачи исследования. 1) Адаптация метода компетентного хемилюминесцентного анализа на специфических моноклональных антителах (МКА) для гомогенатов и культуры клеток опухолей человека; 2) количественное определение экспрессии ReCAF в опухолевых моделях.

Материалы и методы. Использовали гомогенаты п/к ксенографтов опухолей человека (рак молочной железы Т47D, рак толстой кишки SW620) у Balb/c nude мышей и культуру клеток рака печени HepG2. Опухоли санифицировали 30 с на льду ультразвуковым гомогенизатором (BILON-150Y, КНР) при 60 Вт (40 %) с последующим центрифугированием 10 мин при 13000 об/мин до получения однородных гомогенатов-супернатантов для иммунохемилюминесцентного анализа (ИХА). Для количественного определения ReCAF в гомогенатах использовали ранее разработанный ИХА «РЕКАФ», основанный на компетентном одностадийном анализе присутствующих в образце молекул АФП-рецептора с фиксированным количеством меченого конъюгата (АФП-рецептор — акридин) за связывание со специфическими МКА. Гомогенат нормальной ткани мыши служил отрицательным контролем, клеточная суспензия К-562 — положительным контролем. Наличие рецепторов АФП в гомогенатах опухолей подтверждали по стандартной методике Лэммли на полиакриламидном гель-электрофорезе и вестерн-блоттингом с использованием специфических МКА.

Результаты. Результаты ИХА показали, что в гомогенате Т47D содержится 9152 Ед/мл, в гомогенате SW620—2839 Ед/мл, а в культуре клеток HepG2—4865 Ед/мл ReCAF. Видно, что количество ReCAF убывает в ряду Т47D > HepG2 > SW620. В контрольных и тестируемых образцах по этой методике выявлено большое количество рецепторов с молекулярной массой 67 кДа, которые подтверждены на полиакриламидном гель-электрофорезе и иммунологически при помощи МКА.

Заключение. Таким образом, из протестированных моделей наиболее адекватной для доклинического изучения АФП-содержащих таргетных препаратов можно считать рак молочной железы человека Т47D с аутокринным типом гормональной зависимости, дающий п/к ксенографты у иммунодефицитных мышей.

*Ж.Р. Черкасова¹, С.А. Цуркан¹, Г.Б. Смирнова²,
Ю.А. Борисова², Е.М. Трещина²*

СПЕЦИФИЧНОСТЬ СВЯЗЫВАНИЯ ПРЕПАРАТА АИМПИЛА С РЕЦЕПТОРАМИ α -ФЕТОПРОТЕИНА НА ПОВЕХНОСТИ ОПУХОЛИ ЧЕЛОВЕКА Т47D ИЗ КОЛЛЕКЦИИ РОНЦ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА

¹ООО «ФНЦ «Фармаксес», Москва;

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

Введение. Препарат Аимпила представляет собой запатентованный в РФ пероральный нековалентный ком-

плекс, состоящий из транспортного белка α -фетопротеина (АФП) и известного индуктора апоптоза. Ранее показано, что препарат активен *in vivo* на подкожных (п/к) ксенографтах некоторых опухолей человека, экспрессирующих рецепторы АФП. Уровень ингибирования роста п/к опухолей сопряжен с уровнем экспрессии рецепторов в гомогенатах или суспензии опухолей. Наиболее чувствительным оказался рак молочной железы человека Т47D/АФП⁺⁺⁺. Специфичность связывания препарата Аимпила с АФП-рецептором в опухоли ранее не изучали.

Цель исследования — определение специфичности связывания препарата Аимпила с рецепторами АФП в гомогенатах наиболее чувствительной модели опухоли человека.

Задачи исследования. 1) Разработка твердофазного иммунохемилюминесцентного анализа (ИХА) по типу «сэндвич» на специфических моноклональных антителах (МКА) для гомогенатов и культуры клеток опухолей человека; 2) количественное определение связывания препарата Аимпила с АФП-рецептором в п/к ксенографтах Т47D/АФП⁺⁺⁺.

Материалы и методы. Для тестирования использовали конъюгат препарата Аимпила с акридином и гомогенат п/к ксенографтов рака молочной железы человека Т47D/АФП⁺⁺⁺ у Balb/c nude мышей. Опухоль санифицировали 30 с на льду ультразвуковым гомогенизатором (BILON-150Y, КНР) при 60 Вт (40 %) с последующим центрифугированием 10 мин при 13000 об/мин до получения однородных гомогенатов-супернатантов для проведения разработанного нами ИХА. Твердофазный ИХА с высокоспецифичными МКА типа IgM к рецептору АФП проводили в 2 стадии: 1) связывание молекул рецептора АФП в гомогенате Т47D с МКА, иммобилизованными на твердой фазе, где серию разбавлений гомогената наносили вертикально на планшет с МКА и выдерживали 2 ч; 2) на иммобилизованном планшете горизонтально проводили двукратные разбавления люминесцентного конъюгата и измеряли результаты связывания на 96-микропланшетном флуориметре Glomax (Promega, США) после часовой инкубации при комнатной температуре и тщательного промывания микропланшета.

Результаты. Конъюгат Аимпила — акридин в концентрации 800 нг/мл демонстрирует высокую специфичность связывания с АФП-рецепторами высокочувствительной к нему Т47D/АФП⁺⁺⁺ независимо от разбавления гомогената. При этом максимальный эффект наблюдался при 10-кратном разбавлении гомогената Т47D/АФП⁺⁺⁺ без «насыщения» центров связывания. Чувствительность системы ограничена степенью разбавления гомогената.

Заключение. Препарат Аимпила проявляет высокую специфичность связывания с рецепторами АФП в относительно низкой концентрации 800 нг/мл в чувствительной к нему опухоли — раке молочной железы Т47D/АФП⁺⁺⁺. Увеличение специфичности связывания с рецептором до максимального «насыщения» системы возможно при увеличении концентрации Аимпила и плотности гомогената. Полученные данные позволяют предположить, что связанные с рецептор-опосредованным действием эффекты Аимпила будут проявляться в невысоких разовых дозах и дозозависимо.