

зависит от пола пациента, что должно учитываться для разработки алгоритмов диагностики и создания панелей диагностических систем для раннего выявления рака ПЖ при ХП.

**А.А. Вартамян, О.С. Бурова, М.А. Барышникова**  
**ВОВЛЕЧЕНИЕ АУТОФАГИИ В ВАСКУЛОГЕННУЮ МИМИКРИЮ ПРИ МЕЛАНОМЕ**

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

**Введение.** Аутофагия рассматривается как катаболический процесс удаления отработанных органелл, долгоживущих белков, патогенов и продуктов распада с помощью двухмембранных аутофагосом, в результате которого клетка самообновляется и поддерживает жизнеспособность. Аутофагия сопровождает жизнедеятельность нормальной клетки на протяжении всего времени ее существования и, по всей видимости, является элементом клеточной защиты. В последние годы получены доказательства существования альтернативной системы кровоснабжения опухоли — васкулогенной мимикрии (ВМ): формирование опухолевыми клетками в отсутствие эндотелиальных клеток васкулярных каналов, ограниченных базальной мембраной.

**Цель исследования** — выявить взаимосвязь между аутофагией и ВМ.

**Материалы и методы.** В работе были использованы 2D- и 3D-культивирование клеток меланомы, выведенных в клеточную линию из операционного материала пациентов с диссеминированной меланомой, электрофорез и Вестерн блот, нокдаун гена с помощью малых интерферирующих РНК, проточная цитофлуориметрия.

**Результаты.** Об уровне активации аутофагии в клетках меланомы судили по экспрессии LC-3В — маркера необратимой стадии аутофагии. В клеточной линии меланомы с мутацией в *BRAFV600E* LC-3В экспрессировали  $22 \pm 2$  % клеток, а в клеточной линии меланомы дикого типа этот белок экспрессировали  $94 \pm 5$  % клеток. Блокирование аутофагии 3-Ма, ингибитором инициации аутофагии, приводило к заметному снижению способности клеток меланомы формировать в 3D-культуре сосудисто-подобные структуры (СПС). Блокирование поздней стадии аутофагии (слияния фагофор с лизосомами) хлорокином также ингибировало формирование СПС. Полученные результаты были подтверждены нокдауном гена *BECN1*, участвующего в инициации аутофагии, и гена *ATG5* — маркера функционально активной аутофагосомы. Нокдаун гена *BECN1* в клетках меланомы, формирующих СПС, малыми интерферирующими РНК снижал уровень белка beclin1 на 70–75 % и блокировал формирование СПС на Матригле. Клетки меланомы с нокдауном гена *ATG5* на Матригле «ошаривались», но сохраняли способность мигрировать и узнавать друг друга, формирование СПС не наблюдалось.

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о том, что аутофагия активно участвует в формировании СПС. Мы предполагаем, что аутофагия в прогрессии опухоли выполняет двойную функцию — снижает эффективность химиотерапии и способствует формированию дополнительной васкулярной сети, ВМ, которая может частично

компенсировать недостаточно быстрое развитие в опухоли кровеносной сети.

**П.И. Васильчиков, А.Д. Перенков, Д.В. Новиков, С.В. Шумилова, Н.А. Новикова, В.В. Новиков**  
**РЕКОМБИНАНТНЫЙ ИММУНОТОКСИН ПРОТИВ МУЦИНА 1 НА ОСНОВЕ SCFV МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ ИКО25 И РОТАВИРУСНОГО ЭНТЕРОТОКСИНА NSP4**

ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

**Введение.** Одним из перспективных направлений в терапии онкологических заболеваний является использование антител против опухолеассоциированных антигенов. Ранее в РОНЦ им. Н.Н. Блохина были получены моноклональные антитела (МКА) мыши ИКО25, специфичные к Муцину 1 (MUC1) человека, для которых показана возможность использования в иммунотерапии опухолей. В клетках *E. coli* нами был получен рекомбинантный аналог антител против MUC1, представляющий собой объединенные в одну молекулу варьируемые фрагменты легкой и тяжелой цепей (scFv) МКА ИКО25. Для усиления противоопухолевого действия scFv был слит с фрагментом молекулы ротавирусного энтеротоксина NSP4, что привело к получению иммунотоксина scFv-NSP4. Согласно литературным данным, NSP4 обладает мембранодестабилизирующим действием и способностью индуцировать апоптоз в клетках линий колоректального рака (HT — 29) и рака тела матки (HeLa).

**Цель исследования** — изучить характер взаимодействия иммунотоксина scFv-NSP4 с клеточными линиями, экспрессирующими и не экспрессирующими MUC1.

**Материалы и методы.** Культуры клеток MCF-7, Colo-205, Saso-2, предоставленные РОНЦ им. Н.Н. Блохина, выращивали по стандартному протоколу. Иммунотоксин scFv-NSP4 экспрессировали в *E. coli* и очищали хроматографически. Полученный препарат scFv-NSP4 и МКА ИКО25 (РОНЦ им. Н.Н. Блохина) метили активированным эфиром флуоресцентного красителя Cy-5 и методом проточной цитометрии, оценивали взаимодействие с клетками линий MCF-7, Colo-205 и Saso-2.

**Результаты.** Показано, что иммунотоксин scFv-NSP4 взаимодействовал с 99,2 и 98 % клеток линий Colo-205 и MCF-7, экспрессирующих MUC1, соответственно. Флуоресценция клеток линии Saso-2, не экспрессирующих MUC1, регистрировалась лишь в 0,33 % случаев, что, вероятно, связано с неспецифическим взаимодействием. При этом уровень флуоресценции рекомбинантного иммунотоксина scFv-NSP4 на поверхности клеток линии Colo-205 был в 1,8 раз выше, чем на поверхности клеток линии MCF-7. Полученные данные совпадали с результатами окрашивания клеток с использованием МКА ИКО25. Следует отметить, что уровень флуоресценции клеток, окрашенных рекомбинантным иммунотоксином, в среднем в 2,5 раза превышал уровень флуоресценции клеток, окрашенных МКА ИКО25.

**Заключение.** Таким образом, рекомбинантный иммунотоксин scFv-NSP4 проявлял сходную с МКА ИКО25 специфичность связывания с MUC1 антигеном на поверхности опухолевых клеток. Повышенный уровень флуорес-

ценции клеток, окрашенных scFv-NSP4, по сравнению с МКА ИКО25 может свидетельствовать о способности рекомбинантного иммунотоксина узнавать недоступные для классических антител эпитопы белка за счет меньшего размера молекулы.

*Д. П. Веевник<sup>1</sup>, А. С. Федулов<sup>2</sup>, Т. Л. Юркитович<sup>3</sup>,  
Н. К. Юркитович<sup>3</sup>, П. М. Бычковский<sup>3</sup>, А. И. Трутко<sup>1</sup>*  
**ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ И ПЕРЕНОСИМОСТИ  
В ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ НА ФОНЕ  
ЛОКАЛЬНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ «ТЕМОДЕКСОМ»**

<sup>1</sup>Городская клиническая больница скорой медицинской помощи, Минск, Республика Беларусь;

<sup>2</sup>Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь;

<sup>3</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

**Введение.** Несмотря на постоянный прогресс в хирургии опухолей головного мозга и использовании лучевой и химиотерапии, сохраняется низкая выживаемость, высокая смертность и инвалидизация пациентов, особенно при опухолях высокой степени злокачественности.

**Цель исследования** — повысить эффективность лечения пациентов с нейроэпителиальными опухолями головного мозга супратенториальной локализации при применении локальной химиотерапии «Темодексом».

**Материалы и методы.** Дизайн клинического исследования: открытое, контролируемое, проспективное, рандомизированное с параллельными группами. В исследование рекрутированы 136 пациентов с первично-мозговыми злокачественными опухолями, находившихся на лечении в нейрохирургическом отделении учреждения здравоохранения Городской клинической больницы скорой медицинской помощи г. Минска с 2010 по 2014 г. В качестве суррогатных (промежуточных) точек наблюдения в послеоперационном периоде выбраны следующие: динамика статуса пациентов по шкале Карнофского, гематологические показатели, частота и характер осложнений. В качестве конечных точек исследования определены следующие: общая выживаемость и бессобытийная выживаемость.

**Результаты.** После тотального удаления медиана выживаемости в основной группе составила 73,0 (56,2–105,8) нед, в контрольной — 43,4 (32,3–53,1) (WW = 17,7,  $p = 0,000$ ); после субтотального удаления медиана выживаемости в основной группе — 68,9 (50,9–119,1) нед, в контрольной — 39,0 (30,2–49,3) (WW = 6,7,  $p = 0,003$ ) нед соответственно. Кумулятивная доля выживших пациентов с G II–IV опухолями основной группы при двухгодичном наблюдении — 38,5 %, в контрольной — 10,1 % (WW = 23,2,  $p = 0,0001$ ). Доля выживших пациентов с G III–IV опухолями основной группы при двухгодичном наблюдении — 27,7 %, контрольной — 1,3 % (WW = 26,3,  $p = 0,0001$ ). В основной группе осложнения отмечались в 9,8 % случаев, в контрольной — в 12,6 %. Тромбоэмболия легочной артерии послужила причиной летального исхода у 4,9 % пациентов основной и 2,1 % контрольной группы. В контрольной группе отек и дислокация головного мозга, осложнившие течение кровоизлияний в ложе удаленной

опухоли, и гнойный менингит привели к летальному исходу в 3,2 % случаев.

**Заключение.** Таким образом, в раннем послеоперационном периоде в основной группе осложнения по характеру и частоте не отличались от контрольной. Локальная химиотерапия с использованием препарата «Темодекс» является технически не сложной в выполнении, не сказывается на длительности оперативного вмешательства, безопасна и удовлетворительно переносится пациентами.

*Ю. Л. Володина<sup>1</sup>, А. С. Тихомиров<sup>2</sup>, Л. Г. Деженкова<sup>2</sup>,  
А. Е. Щекотихин<sup>2</sup>, А. А. Штиль<sup>1</sup>*

**НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ АНТРАФУРАНА:  
ХИМИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И МЕХАНИЗМЫ  
ЦИТОТОКСИЧНОСТИ**

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

<sup>2</sup>ФГБНУ НИИНА им. Г. Ф. Гаузе РАМН, Москва, Россия

**Введение.** Антрафуран-3-карбоксамиды ЛХТА-2251 и ЛХТА-2273, содержащие в 2-положении CF3-группу и атом водорода соответственно, являются наиболее перспективными аналогами противоопухолевого препарата «Антрафуран» (ЛХТА-2034, Щекотихин А. Е. и др. *Патент РФ № 2554939*, 2015).

**Цель исследования** — установить механизмы гибели опухолевых клеток, индуцируемых антрафуран-3-карбоксамидами ЛХТА-2251 и ЛХТА-2273.

**Материалы и методы.** Соединения ЛХТА-2251 и ЛХТА-2273 получены конденсацией соответствующих 4,11-дигидроксиантра [2,3-*b*] фуран-3-карбоновых кислот (А. С. Тихомиров и др., *ХТС*, 2014, 2, 298; А. С. Тихомиров и др., *ХТС*, 2013, 2, 264) с (*S*) 3-аминопирролидином и (*R+S*) 3-аминопиперидином. Цитотоксичность определяли в МТТ-тесте. Использовали линию клеток рака толстой кишки НСТ116 и сублинию НСТ116р53КО с инактивацией белка p53, линию лейкоза K562 и сублинию K562/4 с гиперэкспрессией Р-гликопротеина (множественная лекарственная устойчивость). Ингибирование топоизомеразы I изучали в реакции релаксации суперскрученной плазмидной ДНК. Внутриклеточное накопление соединений, клеточный цикл и апоптоз исследовали методом проточной цитометрии: о накоплении судили по флуоресценции клеток после обработки каждым соединением; распределение фаз клеточного цикла оценивали по свечению интеркалятора йодида пропидия; апоптотические клетки определяли по связыванию аннексина-V, конъюгированного с FITC. Некротические клетки выявляли окраской трипановым синим.

**Результаты.** Антрафуран-3-карбоксамиды ЛХТА-2251 и ЛХТА-2273 показали высокую антипролиферативную активность на линиях опухолевых клеток разного тканевого происхождения, в том числе на резистентных сублиниях. Оба соединения быстро (в течение 1 ч) накапливаются в опухолевых клетках. Производные ЛХТА-2251 и ЛХТА-2273 в микромолярных концентрациях ингибируют топоизомеразу I и вызывают апоптоз клеток K562. При действии ЛХТА-2251 гибели предшествует задержка клеточного цикла в фазе G2/M. Напротив, апоптоз клеток K562 при действии ЛХТА-2273 сопровождается быс-