

**651. Вплив малих доз доксорубіцину на протипухлинну дію неактивованих та активованих лімфоцитів хворих із пухлинами, чутливими і резистентними до доксорубіцину**

*О.Б. Белова, Ю.Д. Вінничук, Н.М. Бережна*

*Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ*

Ефективність дії активованих лімфоцитів відносно хіміорезистентних пухлин обґрунтовує пошук шляхів її підвищення. Відомо також, що малі дози хіміопрепаратів можуть впливати на активність лімфоцитів, змінюючи чутливість пухлини до їх цитотоксичної дії. У зв'язку з цим мета роботи полягала у вивченні дії малих доз доксорубіцину при його сумісному культивуванні з активованими лімфоцитами та біоптатами пухлин у системі дифузійних камер.

Дослідження проведено на матеріалі, отриманому від хворих із саркомами м'яких тканин (фібросаркома, нейросаркома, рабдоміосаркома, ліпосаркома, дерматофібросаркома) та епітеліальними пухлинами (рак шийки і тіла матки, рак яєчника). Пухлини були як чутливими, так і нечутливими до дії доксорубіцину (чутливість визначалася згідно з розробленим нами методом). Використовувалися такі дози доксорубіцину: традиційна терапевтична доза в перерахунку на культивування експлантату — 0,002 мг/мл та малі дози — 0,002 мг/мл, 0,0002 мг/мл і 0,00002 мг/мл. Отримували лімфоцити з гепаринізованої периферичної крові шляхом центрифугування в градієнті фікол-урографіну та активували ІЛ-2 (ронколейкін, БИОТЕХ, Росія) в дозі 1000 МО/мл на 3 млн. клітин. Протипухлинна активність лімфоцитів вивчалася під час сумісного культивування пухлинних експлантатів та лімфоцитів у дифузійних камерах при додаванні доксорубіцину в зазначених дозах.

Отримані результати показали, що малі дози доксорубіцину за його сумісного культивування з експлантатами як резистентних, так і чутливих пухлин не змінюють росту експлантатів. Вивчення протипухлинної активності активованих та неактивованих лімфоцитів відносно чутливих до доксорубіцину пухлин продемонструвало, що малі дози доксорубіцину по-різному впливають на їх активність: дозозалежно сприяють підвищенню протипухлинної дії активованих лімфоцитів хворих із саркомами м'яких тканин, а у хворих з епітеліальними пухлинами залежно від дози посилюють протипухлинну дію активованих лімфоцитів або не здійснюють впливу. Отже, малі дози доксорубіцину модулюють протипухлинну дію лімфоцитів; характер цієї дії залежить від дози.

**652. Интерлейкины и формирование резистентности опухоли к химиопрепаратам**

*Н.М. Бережна*

*Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ*

Выяснение механизмов формирования химиорезистентности и ее преодоления — вопрос, который уже давно стоит в центре внимания клиницистов и теоретиков. Его изучению посвящено много работ, отражающих различные уровни развития резистентности (клеточный, молекулярный, генетический, эпигенетический). В настоящее время определен подход к преодолению резистентности с участием интерлейкинов. В соответствии с характером их влияния можно выделить 2 группы: способствующие развитию резистентности (ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-35 и др.) и участвующие в ее преодолении (ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-24, ІЛ-32 и др.). Формирование резистентности с участием интерлейкинов происходит с включением различных механизмов, во многом связанных с биологическими особенностями опухолевой клетки. Существенную роль играют и TLRs, взаимодействие которых со своими лигандами приводит к усилению воспаления за счет выделения провоспалительных цитокинов, активации NF $\kappa$ рарра-В и др. Преодоление резистентности с участием интерлейкинов также осуществляется различными способами, основные из которых: увеличение экспрессии проапоптотических молекул и сниже-

ние антиапоптотических; изменение в митохондриях; усиление экспрессии FasL; активация соответствующих внутриклеточных сигнальных систем. Выяснение механизмов преодоления резистентности к действию различных химиопрепаратов открывает возможности новых подходов к терапии.

В работе представляются собственные данные по изучению характера ответа различных химиорезистентных опухолей человека и животных (мякотканые саркомы, рак желудка и яєчника, карциномы молочной железы, меланома В16 и МХ-индуцированная рабдомиосаркома) на действие лимфоцитов, активированных ІЛ-2, с использованием эксплантатов опухолей, культивируемых в диффузионных камерах. Показано, что все резистентные опухоли отличаются повышенной чувствительностью к адоптивной иммунотерапии с различиями, определяемыми биологическими особенностями опухоли. Приводятся результаты исследований по выяснению роли экспрессии некоторых структур во взаимодействии опухлевых клеток и лимфоцитов, в частности молекул адгезии (Е-кадгерин, CD54, CD11b), маркеров активации и пролиферации (CD25, CD40, CD71, Ki-67), p53, HLA-DR, HLA-ABC, CD95 и др. Установлено, что феномен повышенной чувствительности резистентных опухолей к действию лимфоцитов, активированных ІЛ-2, сопровождается изменением экспрессии некоторых структур лишь отдельных исследуемых опухолей и характеризуется выраженной избирательностью.

**653. Иммуномодулирующая активность бластомиуна при иммуносупрессивном действии циклофосамида**

*В.А. Болховская, О.В. Нагорная, В.И. Васильев*  
*ООО «НБЦ «Энзифарм», Ладыжин*

Цитостатический метод лечения онкологических больных все еще остается основным в клинической практике. Однако его эффективность сопровождается высокой токсичностью, в результате которой развивается выраженная иммуносупрессия. Снижение дозы химиопрепаратов, наряду со снижением их токсического воздействия на организм больного, вызывает также и снижение терапевтического эффекта. В связи с этим совместно с цитостатиками применяют иммуномодуляторы, иммунокорректоры или колониестимулирующие факторы гемопоэза. Изучалось иммуномодулирующее действие отечественного препарата Бластомиун на лейкопоэз и макрофагальную активность макрофагов.

В качестве иммуносупрессанта был выбран циклофосфамид, так как он входит во многие схемы лечения онкологических больных (СИС, САМ, САФ и др.). Исследование проводили на мышах. Опытной группе вводили циклофосфамид в/м в дозе 100 мг/кг и иммуномодулятор Бластомиун п/к в дозе 0,001 мг/кг, контрольной — только циклофосфамид. На 5-е сутки забирали кровь из хвостовой вены мышей и исследовали форменные элементы крови по общепринятой методике. Активность перитонеальных макрофагов изучали на 10-й день по методу профессора М.Д. Луцик. Экспериментальные исследования проводили с соблюдением принципов Европейской конвенции (Страсбург, 1985). В контрольной группе была отмечена лейкопения в пределах 3–5 $\times$ 10<sup>9</sup>/л при норме у мышей 7–15 $\times$ 10<sup>9</sup>/л. В опытной группе лейкоциты держались в пределах нижней границы нормы — 7–9 $\times$ 10<sup>9</sup>/л.

Учет перитонеальных макрофагов опытной группы показал, что воздействие Бластомиуна увеличивает их общее число в 2,5 раза по сравнению с группой контроля. При этом вдвое увеличивается количество крупных макрофагов овальной формы с многочисленными лизосомами, что свидетельствует об активации тканевых макрофагов. Бластомиун сохранял фагоцитарный индекс на фоне иммуносупрессии в пределах 70–80% нормы, в контроле — 20–25%. Фагоцитарное число в опытной группе составило 1,2 в контрольной — 2,3.

Бластомиун является эффективным иммуномодулятором, устраняющим лейкопению, развивающуюся на фоне примене-

ния циклофосамида, снижает его цитотоксическое действие, сохраняя активность макрофагов, что в целом способствует более эффективному функционированию защитных факторов иммунной системы.

#### 654. Редокс-залежні механізми гіпоксії, метастазування та неоваскуляризації

*А.П. Бурлака, І.І. Гапуневич, І.О. Лисняк, С.П. Сидорик*

*Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р.С. Кавецького НАН України, Київ*

Супероксидні радикали ( $O_2^{\cdot-}$ ), які утворюються в мітохондріях, ініціюють розвиток багатьох патологічних станів, зокрема злоякісних пухлин, і є суб'єктами неспецифічного імунного захисту та сигнальними молекулами. Основні особливості ракових клітин визначаються порушенням окисно-відновного балансу, ініційованим утворенням комплексів NO з FeS-білками в дихальному ланцюзі мітохондрій, синтезом енергії для потреб пухлинного метаболізму шляхом гліколізу, що формує клітинну гіпоксію, та нерегульованим зростанням рівнів  $O_2$ . Ініційована  $O_2^{\cdot-}$  мітохондрій і нейтрофілів проліферація та виживаність стовбурових клітин/клітин-попередників ендотеліальних клітин визначається рівнем і тривалістю генерування  $O_2^{\cdot-}$ . Раніше було встановлено, що супероксидні радикали беруть участь у деградації міжклітинного матриксу в процесах неоваскуляризації і метастазування шляхом регуляції синтезу та активації матриксних металопротеїназ (ММП). ММП забезпечують ММП-опосередковану модифікацію ангіогенного міжклітинного матриксу і поверхнево-клітинних молекул, продукцію про- й антиангіогенних факторів, мобілізацію клітин-попередників. Усі етапи метастазування є супероксид- та ММП-залежним процесом, у тому числі формування преметастатичної ніші. У хворих на рак молочної залози, ободової та прямої кишки, шлунка нами виявлено кореляційні зв'язки між рівнем генерування  $O_2^{\cdot-}$  клітинами пухлин (у 3–10 разів вище контрольних значень), НАДФ-Н-оксидазою нейтрофілів (15–20 нмоль/10<sup>3</sup> клітин · хв, у 20 разів вище контрольних значень), які є ключовими клітинами розвитку запалення та рівнями метастазування і неоваскуляризації. Визначено залежність між швидкістю генерування  $O_2^{\cdot-}$  та активністю ММП-2 і ММП-9 у кістковому мозку онкологічних хворих, які, за літературними даними, в 3–5 разів перевищують ці показники в донорів. Також встановлено, що НАДФ-Н-оксидаза нейтрофілів регулює активність VEGF у пухлинах на різних стадіях захворювання. Супероксидні радикали, генеровані NAD(P)H-оксидазою нейтрофілів, ініціюють мієлоїдну експансію, регулюють виживаність моноцитів/макрофагів та активують ММП-2, ММП-9 і VEGF в мікрооточенні кісткового мозку й мобілізації проангіогенних клітин. Отримані результати є підґрунтям для створення нових концептуальних підходів до діагностики та лікування онкологічних хворих.

Радикали кисню, генеровані NAD(P)H-оксидазою нейтрофілів, ініціюють мієлоїдну експансію та регулюють виживання моноцитів/макрофагів через вплив на Akt і p38MAPK. Це дає змогу вважати, що Nox-залежні  $O_2^{\cdot-}$  відіграють важливу роль у редокс-сигналізації, що бере участь у мобілізації клітин-попередників із кісткового мозку. Супероксидні радикали спричиняють активацію VEGF та ММП-2 і ММП-9 у мікрооточенні кісткового мозку, що призводить до виділення розчинного Kit ліганда (sKitL) та мобілізації проангіогенних клітин *in vivo*.

У фагоцитарних клітинах NAD(P)H-оксидази складаються з мембрано-асоційованого цитохрома b558, каталітичної субодиниці gp91<sup>phox</sup> та регуляторної p22<sup>pho</sup>, цитозольних компонентів p47<sup>phox</sup>, p67<sup>phox</sup>, p40<sup>phox</sup>, а також малих компонентів GTPase Rac1. У нефагоцитуючих клітинах ідентифіковано декілька гомологів gp91<sup>phox</sup> (відомий як Nox2), у тому числі Nox1, Nox3, Nox4 та Nox5. Крім того, було виявлено подвійну оксидазу, Duox1/2. Nox1, Nox2, Nox4 та Nox5 (наявні тільки в людини) експресуються в ендотеліальних клітинах, у той час як Nox2 та Nox4 виявлено в стовбурових клітинах та клітинах-попередниках.

#### 655. Високоангіогенний варіант карциноми легені Льюїс обумовлює ранні прояви паранеопластичного синдрому

*Г.В. Горбик, О.Й. Дасюкевич, О.Г. Федорчук, О.О. Тромпак, Ю.Р. Якишбаєва, Г.І. Соляник*

*Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р.С. Кавецького НАН України, Київ*

Пухлина, що розвивається, системно впливає на організм, продукуючи в кров низку ростових факторів, біологічно активних медіаторів, у тому числі васкулярний ендотеліальний фактор росту (VEGF), здатний спричиняти численні фізіологічні і патологічні зміни судинної та інших систем організму. Мета роботи полягала в проведенні порівняльного дослідження проявів паранеопластичного синдрому в мишей із трансплантованими варіантами клітин карциноми легені Льюїс, котрі відрізняються за рівнем продукції VEGF. Гематологічні показники оцінювали за допомогою гематологічного аналізатора; сироватковий рівень VEGF визначали методом імуноферментного аналізу; проводили гістологічні дослідження внутрішніх органів; реєстрували вагу печінок, селезінки та тимусів.

У мишей із високоангіогенним варіантом LLC/R9 вже на ранніх стадіях росту пухлини (14-а доба після перещеплення) зафіксовано підвищення рівня циркулюючого VEGF на 169% ( $p < 0,001$ ) порівняно з інтактним контролем і на 99% ( $p < 0,01$ ) порівняно з тваринами з LLC. При цьому лише в мишей LLC/R9 відзначаються виражені прояви анемії, екстрамедулярного гематопоєзу і пухлиноасоційованої запальної хвороби. Серед ознак анемії – достовірне зниження кількості еритроцитів, вмісту гемоглобіну і гематокриту в середньому на 30–40% порівняно з аналогічними показниками інтактних тварин і тварин із трансплантованою LLC. Вага печінки збільшувалася в 1,2 рази, а селезінки – в 1,8 разів порівняно з тваринами з LLC. Морфологічні дослідження внутрішніх органів виявили докази екстрамедулярного гематопоєзу в селезінці та печінці лише в мишей із LLC/R9. У цих тварин також відмічались ознаки інволюції тимусу, що проявлялись у звуженні кортикальної зони вилочкової залози і зменшенні кількості тимоцитів у медулярній зоні.

Отримані дані вказують на те, що продукований пухлинними клітинами VEGF спричиняє виразну маніфестацію гематологічного паранеопластичного синдрому в мишей із високоангіогенним варіантом карциноми легені LLC/R9 вже на ранніх етапах пухлинного росту.

#### 656. Аналіз ролі альтернативних механізмів удлиннения теломер в канцерогенезе

*А.А. Грач*

*Хмельницькая областная больница*

В работе проведен аналитический обзор современных представлений об альтернативных механизмах удлиннения теломер (Alternative Lengthening of Telomeres – ALT) в опухолевых клетках. Было детально показано, что в карциномах, как и в иммортализованных линиях клеток, полученных *in vitro* из эпителиальных клеток, теломеры удлинняются с помощью теломеразы, в то время как в саркомах и линиях, полученных от фибробластов, – с участием ALT. Приведена частота встречаемости теломеразы и ALT среди различных типов карцином и сарком. Проанализированы антителомеразные средства (прямые ингибиторы теломеразы и теломеразные вакцины), которые на сегодня успешно проходят клинические испытания у пациентов с теломеразо-позитивными типами опухолей. Рассмотрены перспективы использования этих средств в онкологической практике с учетом возможности их ошибочного назначения больным с ALT-позитивными типами новообразований, при которых они не будут эффективны, а также того, что на фоне такой антителомеразной терапии в пределах опухоли могут возникнуть клетки, удлинняющие свои теломеры с помощью ALT, что может свести на нет эффективность такого лечения. К счастью, как показывают результаты многочисленных исследований, активация ALT на фоне антителомеразной терапии пока не отмечается. В тоже время такую возможность полностью отбрасывать не стоит. Если вдруг активация все же произойдет,

может возникнуть большая проблема, поскольку в настоящее время средств, направленных против ALТ, не разработано. Также существует проблема, связанная с лечением сарком. Как следствие, нами предложено 2 варианта воздействия, подавляющего ALТ в клетках этого типа опухолей, которые предусматривают либо воздействие на белки рекомбинации, репликации и репарации ДНК с целью нарушения их функции, либо нарушение сборки или структурной организации очень важных для большого количества ALТ-позитивных клеток ALТ-ассоциированных РМЛ-телец, что в обоих случаях приведет к ингибированию рекомбинационного удлинения теломер и гибели опухолевых клеток. Проведен анализ возможной реальной эффективности таких подходов и их токсического воздействия на нормальные клетки.

## 657. Резистентність та біофізичні показники еритроцитарних клітин за цитостатичних ефектів циклофосфану та корекції металорганічною субстанцією есенційних мікроелементів

*А.С. Григор'єва<sup>1</sup>, Н.Ф. Канахович<sup>1</sup>, С.О. Шаповалов<sup>2</sup>, М.М. Долгая<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Інститут фармакології та токсикології НАН України, Київ

<sup>2</sup>Інститут тваринництва НААН України, Харків

Проблема лікування злоякісних новоутворень залишається актуальною на всіх етапах. Одним із найважливіших завдань експериментальної і клінічної фармакології є розробка нових фармакотерапевтичних підходів до підвищення терапевтичної ефективності лікарського методу лікування злоякісних пухлин. Саме це визначило вибір теми дослідження: порівняльне вивчення протиопухлинної активності антибіотиків антрациклінового ряду на тлі застосування металорганічної субстанції есенційних мікроелементів (МОСЕМ).

Робота виконана на 60-ти безпорідних статевозрілих самцях білих шурів із масою тіла 180–210 г, які утримувалися на стандартному раціоні для лабораторних тварин. Їх було розподілено на 3 групи: інтактні; група негативного контролю, яким одноразово внутрішньовенно вводили циклофосфан у дозі 20 мг/кг; група, якій за 5 діб до та протягом 14 діб після введення циклофосфану (аналогічно 2-й групі) щоденно внутрішньошлунково вводили МОСЕМ у вигляді завису крохмального клейстеру в дозі 25 мг/кг маси тіла. Тварин дослідних груп на 3-ю, 7-у і 14-у добу відповідно після введення циклофосфану декапітували, показники крові порівнювали щодо вихідних даних в інтактних тварин.

Під час вивчення впливу МОСЕМ на систему гемопоезу в умовах дії цитостатика було встановлено, що на 3-ю добу після введення циклофосфану в шурів виявляється глибока лейкопенія, причому кількість лейкоцитів становить  $10,9 \pm 1,9\%$  порівняно з групою біологічного контролю. Встановлено, що в умовах розвитку цитотоксичних ефектів в організмі значно змінюються структурно-функціональні характеристики клітинних мембран. При цьому показник напруги пробою знижується на 10%. У ці ж терміни настільки ж знижується струм пробою мембран, який в основному збільшився на 5–15%. В усіх випадках на тлі застосування МОСЕМ підвищується показник опору мембран при їх пробі і збільшується величина відношення провідностей. На 14-у добу МОСЕМ у шурів, що одержували циклофосфан, нормалізує майже всі досліджувані нами показники оцінки електромеханічних властивостей мембран еритроцитів.

Проведені дослідження дозволяють стверджувати, що в умовах розвитку токсичних реакцій в організмі відзначаються суттєві зміни структурно-функціонального стану клітинних мембран, які піддаються корекції МОСЕМ.

## 658. Экспериментальное обоснование и первые результаты клинического применения аутовакцин на основе дендритных клеток в лечении онкологических больных

*Ю.А. Григевич, Н.Н. Храмовская, И.Б. Шепотин*

*Национальный институт рака, Киев*

Современная специфическая иммунотерапия обладает определенным потенциалом для повышения результатов

основного лечения больных злокачественными опухолями. Одним из наиболее перспективных направлений считают использование противоопухолевых вакцин нового поколения на основе дендритных клеток (ДК). Изготовленные ДК-вакцины базируются на выращивании аутологичных ДК из предшественников в достаточных количествах вне организма, «нагрузке» опухолеассоциированными антигенами, индукции их созревания и реинъекции больному. Нами создано несколько конструкций ДК-вакцин, отличающихся источником антигенного материала, используемого для нагрузки ДК: нагрузка лизатом цельных опухолевых клеток (ЛОК), микрочастицами опухолевых клеток, полученных в результате лиофилизации с последующей их механохимической модификацией (м/м ЛФОК), отдельными пептидами опухолеассоциированных антигенов (HER2neu, PEA, CA19–9).

В доклинических исследованиях с использованием 3 моделей опухолевого процесса – карциномы легкого Льюис, меланомы В16 и саркомы 37 – был оптимизирован способ нагрузки ДК антигенным материалом и определена наиболее эффективная схема применения ДК-вакцины в зависимости от способа ее введения. Наиболее эффективны ДК, нагруженные м/м ЛФОК (0,05 мг/мл культуральной среды), при внутривенном или внутрикожном пути введения в режиме вакцинотерапии (не менее 3 введений). Разработаны протоколы применения аутовакцины на основе ДК в адьювантном режиме у больных немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) ПБ–ПІА стадий и раком яичника (РЯ) ПІ–ІV стадий. Пациенты получали не менее 4 внутривенных инъекций ( $4,62 \pm 0,48$ )  $\times 10^6$  ДК моноцитарного происхождения, «нагруженных» аутологичными м/м ЛФОК либо ЛОК. ДК-вакцинотерапия способствовала увеличению общей выживаемости больных НМРЛ на 30% при наблюдении в течение 30 мес и на 19% при наблюдении в течение 42 мес ( $p < 0,05$ ); больных РЯ – на 27,3% и на 13,5% при наблюдении в течение 24 ( $p < 0,01$ ) или 36 мес ( $p < 0,05$ ) соответственно. Формирование противоопухолевого специфического иммунного ответа (активация сенсibilизированных лимфоцитов по уровню секреции ИФН- $\gamma$  и ДНК-синтетической активности) зарегистрировано лишь после 4-х введений ДК-аутовакцины.

Результаты иммуномониторинга могут служить обоснованием для определения курсов ревакцинации.

## 659. Визначення рецепторів стероїдних гормонів у клітинах раку молочної залози (РМЗ) імуноцитохімічним методом

*А.В. Демчук, М.І. Михайлова, О.В. Река, В.В. Гончарова*

*Вінницький обласний клінічний онкологічний диспансер*

Рецептори стероїдних гормонів (РЕ, РП) є одними з основних прогностичних ознак розвитку РМЗ поряд з онкогеном HER(c erb-2), ступеню злоякісності та ін. У карциномах відсоток клітин із РЕ+ РП+ коливається від 0 до 100%, що обумовлено морфологічною та біологічною гетерогенністю клітинного складу раку і властивістю окремих типів клітин зв'язувати естроген. Із метою вивчення можливостей ІЦХ-метода для діагностики РЕ та РП у клітинах РМЗ було проаналізовано 242 дослідження в 141 пацієнтки. Досліджувалися матеріал, який отримали в 79 пацієнток за допомогою ПАБ (І гр.), та мазки-відбитки тканини пухлин, узяті під час операції в 62 хворих (ІІ гр.). Длянки для проведення реакції визначалися в нативних препаратах при мікроскопії в темному полі і відмічалися на склі склографом. Використовували моноклональні антитіла до РЕ, РП, систему візуалізації імунної реакції LSAB, DAB+ для виявлення пероксидазної активності (DACO). Дофарбовували препарати гематоксиліном Майєра. Реакція вважалась позитивною в разі забарвлення ядер у коричневий колір більш ніж 5% клітин РМЗ. Експресія РЕ і РП у клітинах РМЗ залежно від способу отримання матеріалу представлена у таблиці.

Таблиця Експресія PE і PP у клітинах РМЗ

№	Вид експресії	I група		II група		Загалом	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%
1	PE+ PP+	47	59,5	28	45,2	75	53,2
2	PE+ PP-	10	12,6	6	9,7	16	11,4
3	PE- PP+	6	7,6	9	14,5	15	10,6
4	PE- PP-	16	20,3	19	30,6	35	24,8

У II групі пухлин з PE+PP+ виявлено на 14,5% менше, що, імовірно, пояснюється травмуванням клітин під час розтину тканин, а також низьким ступенем диференціювання. При порівнянні рецепторного статусу і ступеню злоякісності РМЗ визначено, що при G2 рецептор-позитивні пухлини трапляються на 10% частіше, ніж при G3. У жінок з II групи гістологічно в 67% випадків встановлено G3, проти 32% в I групі. Отже, ПЦХ-метод дослідження ПАБ РМЗ дозволяє в передопераційний період визначити рецепторний статус пухлини, що сприяє адекватному плануванню терапії до отримання гістологічного висновку.

**660. Противоопухолевая и иммуномодулирующая активность вакцин на основе эмбриональных куриных белков**

*Г.В. Диденко, А.П. Кузьменко, Е.Г. Шпак, Г.П. Потемля  
Институт экспериментальной патологии, онкологии  
и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев*

Исследовано иммуноотропные и противоопухолевые свойства поверхностных белков, полученных из клеток 7-суточного куриного эмбриона. Исследования проведены на 470 мышах с карциномой легкого Льюис, солидными формами саркомы 37 и карциномы Эрлиха. Поверхностные белки из клеток куриного эмбриона получали методом EDTA-экстракции. Деление экстракта осуществляли методом нативного ПААГ-электрофореза с последующей элюцией отдельных белков из графитового геля. Иммунологически активные белки отбирали в ИФА-тесте по уровню перекрестного реагирования с сыворотками мышей-опухоленосителей. Изменение цитотоксической активности иммунокомпетентных клеток, вызванное введением изучаемых белков, определяли в МТТ-тесте. Оценку противоопухолевого эффекта осуществляли общепринятыми методами.

3-разовая иммунизация (с интервалом в 7 дней) опухолевых антигенами (карциномы легкого Льюис и саркомы 37) стимулирует синтез антител, которые перекрестно реагируют как с антигенами, которыми иммунизировали животных, так и с антигенами 7-дневного куриного эмбриона. Титры антител к антигенам куриного эмбриона достоверно ( $p < 0,05$ ) выше, чем у интактных животных. Сыворотки мышей-опухоленосителей, полученные на 14 и 21 сутки после перевивки опухоли, перекрестно реагировали с антигенами куриного эмбриона с молекулярной массой  $> 70$  кДа. Введение вакцины, разработанной на основе эмбриональных белков куриного эмбриона и белоксодержащих метаболитов *B. subtilis* B-7025, достоверно ( $p < 0,05$ ) тормозило рост опухоли и образование метастазов у мышей. Противоопухолевое действие вакцины реализовалось, вероятно, за счет стимуляции реакций антигенозависимого лизиса опухолевых клеток, опосредованного лимфоцитарными и макрофагальными клетками.

Представленные данные указывают на перспективность использования белковых фракций куриного эмбриона для создания противоопухолевых вакцин на их основе.

**661. Состояние системы оксида азота у больных раком яичников**

*Н.А. Добровольский, А.И. Марченко, А.И. Рыбин  
Одесский областной онкологический диспансер*

Сегодня заболеваемость раком яичников (РЯ) остается стабильно высокой во всем мире. В Украине летальность больных РЯ до года составляет 35%, 1 из 100 женщин может умереть от данной патологии. Это обусловлено отсутствием достоверных критериев на этапе дифференциальной диагностики между кистами яичников и РЯ, отсутствием системы скрининга контингента пациентов с наследственной отягощенностью по РЯ. Изучение

свойств оксида азота (NO) является одним из наиболее активно развивающихся направлений биомедицинских исследований. В настоящее время можно говорить о дуалистической роли NO как мощного фактора антибластной защиты с одной стороны, а также мутагена и стимулятора ангиогенеза с другой. Цель работы заключалась в изучении состояния системы NO в ткани яичников больных РЯ в зависимости от стадии заболевания. Для этого 60 пациенток с РЯ, получавших лечение в отделении онкогинекологии ООД, были разделены на 3 группы. 1-ю группу составили 20 пациенток с I (A-C) стадией РЯ. Женщины со II (A-C) и III (A-C) стадиями РЯ составили 2-ю ( $n=20$ ) и 3-ю ( $n=20$ ) группы исследования соответственно. Высокая активность NO не отмечалась ни в одной из групп. Умеренная активность NO была выявлена у 2 (10,0%) и 8 (40,0%) пациенток 2-й и 3-й групп соответственно, тогда как в 1-й группе таковую не обнаружили. Слабая активность NO определена лишь у 6 (30,0%) женщин 3-й группы, а в 1-й и 2-й группах не была выявлена ни у одной из пациенток. Следовая активность NO обнаружена у 6 (30,0%), 10 (50,0%) и 2 (10,0%) больных 1-й, 2-й и 3-й групп соответственно. Отсутствие активности NO установлено у 14 (70,0%), 8 (40,0%) и 4 (20,0%) пациенток 1-й, 2-й и 3-й групп соответственно. Сравнительный коррелятивный межгрупповой анализ показал достоверное повышение активности NO по мере усиления злокачественности и распространенности опухолевого процесса. Полученные результаты позволяют рассматривать NO не только как одно из звеньев патогенеза злокачественных новообразований, но и как показатель состояния саногенетических процессов в ткани. Учитывая данные литературы о роли NO как фактора генетически детерминированной устойчивости организма к стрессорным повреждениям и адаптационной защиты, определение активности NO в опухолевой ткани может использоваться для оценки эффективности и мониторинга проводимого лечения, а также определения прогноза заболевания и риска развития РЯ.

**662. Гістологічні зміни легень під впливом кверцетину та тіотриазоліну в щурів із постхіміопроменевими легеневими пошкодженнями**

*Ю.В. Думанський, І.Ф. Хурані*

*Донецький національний медичний університет ім. М. Горького  
Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова*

Проведення хіміопроменевої терапії супроводжується рядом ускладнень, 50% яких – пошкодження легень. В основі пневмотоксичності лежить оксидантний стрес, тому в протекторній терапії велике значення надається антиоксидантам. Мета роботи полягала у вивченні протекторного впливу кверцетину і тіотриазоліну на постхіміопроменеве пошкодження легень в експерименті. Дослідження проводилося на білих лінійних щурах Fisher, Wistar і спонтанно-гіпертензивних, яким на тлі опромінення, введення циклофосфаміду або поєднання опромінення з циклофосфамідом вводили кверцетин та тіотриазолін. Мікроскопію препаратів проводили на мікроскопі OLIMPUS.

Опромінення щурів, так само, як і введення їм циклофосфаміду, спричиняло розвиток інтерстиціального склерозу та депресії лімфоїдної тканини легень. При поєднанні опромінення із введенням циклофосфаміду токсичні ефекти посилювались, збільшився ступінь та розповсюдженість пневмосклерозу, зменшився об'єм лімфоїдної тканини. Найбільш вираженими зміни були в групі спонтанно-гіпертензивних щурів, найменш – у щурів групи Wistar. Це доводить, що радіо- і хіміорезистентність легеневої тканини щурів різних ліній генетично зумовлена. Застосування кверцетину та тіотриазоліну попереджує розвиток постхіміопроменевих пошкоджень легень щурів, сприяє підвищенню резистентності тканин та їх антиоксидантному захисту. Найбільш вираженим протекторний ефект був у групах Fisher та спонтанно-гіпертензивних щурів, що проявилось збільшенням кількості лімфоїдної тканини і відсутністю явищ пневмосклерозу.

Пошкоджуюча дія опромінення і циклофосфаміду на легені, а також протекторний вплив кверцетину та тіотриазоліну в щурів різних генетичних ліній різний. Вивчення ролі гене-

тичних факторів у розвитку хіміопроменевих пошкоджень є перспективним напрямком досліджень, які допоможуть у виборі протекторної терапії.

## 663. Експериментальне обґрунтування доцільності використання інозину в радіаційній онкології

*Е.А. Дьоміна*

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ*

Незважаючи на новітні програми і технології сучасної радіаційної онкології, лікування онкологічних хворих у ряді випадків призводить до тяжких пошкоджень нормальних органів і тканин, які потрапляють у зону опромінення, що не дозволяє ефективно довести курс променевої терапії до кінця. Використання класичних радіопротекторів для переважного захисту здорових радіочутливих тканин у процесі терапевтичного опромінення не призвело до очікуваних результатів через їх високу токсичність і неефективність при фракціонованих режимах. Рівень радіаційно-індукованих аберацій хромосом у найбільш радіочутливих соматичних клітинах людини — лімфоцитах периферичної крові (ЛПК) — вважається об'єктивним показником ступеня модифікації променевих ефектів. Мета роботи — зниження рівня радіаційно-індукованих генетичних пошкоджень у немалігнізованих клітинах онкологічних хворих. Як радіопротектор застосовували препарат інозин (рибоксин) — попередник синтезу АТФ і нуклеотидів, що підтримує енергетичний баланс у тканинах.

Методика культивування ЛПК та метафазний аналіз аберацій хромосом не відрізнялися від загальноприйнятих. Інозин («Дарниця», Україна) додавали в профілактичній дозі (у перерахунку 0,01 мг/мл крові) за 30 хв до опромінення. Культуру ЛПК онкологічних хворих (злоякісні пухлини молочної залози) опромінювали на  $\gamma$ -установці «Рокус» із джерелом  $^{60}\text{Co}$  у діапазоні доз 0,1–1,0 Гр. Інозин не спричиняв токсичного впливу на проліферативний потенціал лімфоцитів онкохворих. Під його впливом в інтактних клітинах пацієнтів до початку протипухлинної терапії загальна частота аберацій хромосом знижувалась у 1,8 рази. Найбільший радіозахисний ефект інозину відзначався під час опромінення культури ЛПК хворих у діапазоні 0,1–0,2–0,5 Гр: рівень радіаційно-індукованих аберацій хромосомом знижувався до значень спонтанного; коефіцієнт модифікації променевого ефекту становив 1,9, 1,7 та 2,2 відповідно.

Отже, результати експериментального (цитогенетичного) дослідження доводять, що використання препарату інозин доцільно призначати онкологічним хворим із метою зниження ступеню і частоти реакції та ускладнень із боку здорових тканин унаслідок променевої терапії, що має сприяти проведенню курсу опромінення в повному обсязі.

## 664. Комбіновані ефекти оксидів азоту та іонізуючого випромінювання на хромосомному рівні немалігнізованих клітин людини

*Е.А. Дьоміна, В.М. Михайленко*

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ*

Визначено здатність NO та його похідних пошкоджувати структуру ДНК, що підтверджує не тільки його участь в утворенні хромосомних перебудов, а й в індукції пухлин. Існують докази участі нітрозотіолів (НТ) у регуляції канцерогенезу шляхом впливу на функціонування білків, задіяних на різних стадіях розвитку пухлин. Актуальним є також вивчення закономірностей та механізмів дії комутагенів, які можуть суттєво підсилювати дію мутагенів довкілля, у тому числі NO і радіації. Небезпечними серед виявлених комутагенів є лікарські засоби, наприклад кофеїн. Мета роботи — дослідити особливості впливу НТ, рентгенівського випромінювання та комутагену (кофеїну) на проліферативний та цитогенетичний статус лімфоцитів периферичної крові (ЛПК) людини (дослідження *in vitro*).

Матеріалом слугувала культура ЛПК донорів (34 спостереження) із наступним метафазним аналізом клітин у першо-

му мітозі. Культуру клітин опромінювали на рентгенівській установці «РУМ-17»: потужність дози — 0,41 Гр/хв, сила струму — 10 мА, напруга — 200 кВ, фільтри Cu (0,5 мм) + Al (1 мм), діапазон доз — 0,5–1,0 Гр. Нітрозований глутатіон додавали в культуру клітин у діапазоні концентрацій 0,25–1,0 мкМ/л, кофеїн — 200–600 мкг/мл крові.

Незалежно від концентрації НТ пригнічує мітотичну активність лімфоцитів майже на 30% порівняно з контролем. При комбінованій дії НТ (0,5 мкМ/л) та опроміненні в дозі 0,5 Гр мітотичний індекс лімфоцитів порівняно з контролем знижується більше ніж на 60%. Результати цитогенетичного аналізу свідчать про індукцію аберацій хроматидного типу під впливом НТ, причому в спектрі аберацій хромосом присутні як делеції, так і обміни (12 та 6,3/100 метафаз відповідно). Найбільший модифікуючий вплив кофеїну на мітотичну активність лімфоцитів відзначався за дії найменшої концентрації НТ (0,25 мкМ/л) та найбільшої концентрації кофеїну (600 мкг/мл) — проліферативний потенціал лімфоцитів пригнічувався у 2,5 рази порівняно з інтактним контролем (85,0‰ і 33,6‰) та майже у 2 рази (62,0‰ і 33,6‰) порівняно з дією лише НТ.

Показано цитотоксичну дію НТ на соматичні немалігнізовані клітини людини, у тому числі при комбінованій дії з рентгенівським випромінюванням. Кофеїн підсилював дію НТ, пригнічуючи проліферативний потенціал клітин.

## 665. Вплив вуглецевих нанотрубок на підвищення канцерогенного ризику внаслідок порушення вільнорадикального гомеостазу

*Л.О. Слейко-Хемич, В.М. Михайленко, О.А. Главін, О.Б. Ганжа, Л.І. Маковецька, М.О. Дружина*

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ*

Вуглецеві нанотрубки (ВНТ) здатні проникати крізь мембрани клітин і впливати на їх функціонування шляхом утворення вільних радикалів та розвитку оксидативного стресу. Результати багатьох досліджень указують на те, що вільнорадикальні реакції мають вирішальне значення при реалізації деяких механізмів канцерогенезу. Мета роботи полягала у визначенні впливу багаточарових ВНТ (БшВНТ) на рівень реактивних форм кисню (РФК) та азоту (РФА), прооксидантно-антиоксидантного співвідношення й активності ферментів антиоксидантного захисту.

БшВНТ вводили в черевну порожнину (1 мл/мишу) у концентраціях 0,5 і 1,5 мг на мишу на 24 та 48 год. У клітинах печінки визначали рівень РФК і РФА, у крові — прооксидантно-антиоксидантне співвідношення за допомогою методу хемілюмінесценції, накопичення малонового діальдегіду (МДА), активність супероксиддисмутази (СОД) і каталази.

Дія низької дози БшВНТ супроводжувалась зростанням рівня РФК і РФА на 57% через 24 год і на 31% через 48 год відповідно. Паралельно підвищувався спонтанний рівень МДА на обидва терміни дослідження (на 196 і 82%) та відмічалось зміщення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в бік прооксидантів на фоні зниження активності каталази на 23% через 48 год після введення БшВНТ, хоча через 24 год активність ферменту на 32% перевищувала контрольну. Активність СОД зростала через 24 (на 84%) і 48 (на 107%) год після експозиції до БшВНТ у концентрації 0,5 мг. Збільшення дози БшВНТ супроводжувалося зростанням рівня вільних радикалів на 42% через 24 год та на 60% через 48 год. При цьому слід відмітити зниження активності каталази на обидва терміни дослідження (на 13 та 29% відповідно) на фоні підвищеного спонтанного рівня МДА (на 196 і 397%), хоча відзначалося зростання активності СОД на 111% через 48 год після введення БшВНТ у концентрації 1,5 мг/мишу.

Отже, вплив БшВНТ супроводжувався зростанням рівня вільних радикалів та продуктів переокисного окислення ліпідів на фоні зміни активності ферментів антиоксидантного захисту.

### 666. Ефективність ксеногенної вакцини, виготовленої на основі онкофетальних антигенів, та її вплив на деякі імунологічні показники мишей із меланою В-16

О.М. Караман, І.М. Восікіова, Н.І. Федосова, О.Ю. Юдіна,  
Л.М. Євстратєва, Г.В. Діденко, Г.П. Потєбня

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім.  
Р.Є. Кавецького НАН України, Київ

Нині все більше з'являється повідомлень щодо можливості застосування в протипухлинній терапії ксеногенних протипухлинних вакцин (ПВ), які є більш імуногенними порівняно з аллогенними або ж аутологічними. За попередніми даними, застосування сконструйованої в нашому відділі ксеногенної ПВ, виготовленої на основі ембріональної нервової тканини шурів та білокумісного метаболіту (БМ) *B.Subtilis* з М.М. 70 кДа, у мишей з експериментальними пухлинами мало виразний антиметастатичний ефект. Тому метою роботи було дослідження протипухлинного ефекту такої ксеногенної ПВ та її вплив на вагові і клітинні характеристики імунокомпетентних органів в оперованих із приводу меланоми В-16 мишей.

Дослідження проводили на мишах-самках *C<sub>57</sub>Bl* (2,5 міс). Клітини меланоми В-16 вводили в стопу правої задньої лапи по  $3 \times 10^5$  в 0,05 мл; на 15-ту добу після перещеплення тварин оперували; ПВ вводили (підшкірно в ділянку спини, концентрація по білку сумарно  $[C]=0,3$  мг/мл) на 3-тю добу після операції, тричі з інтервалом у 3 доби, з наступними двома ревакцинаціями (1-ша через 7 днів після закінчення основного курсу вакцинації, 2-га — через 7 днів після першої ревакцинації). На 40-ву добу після операції (53-тя доба пухлинного процесу) оцінювали показники метастазування меланоми В-16, а також вагові та клітинні характеристики селезінки, тимусу, периферичних лімфатичних вузлів (ПЛВ), клітинність макрофагів і їх активність у НСТ-тесті.

Застосування ПВ в оперованих мишей суттєво знижувало частоту виникнення метастазів, їх кількість та об'єм (у 5,8, 8,1 і 13,1 разів відповідно,  $p < 0,05$  порівняно з оперованими невакцинованими мишами). Індекс інгібіції метастазування становив 97,9%. В оперованих тварин незалежно від уведення ПВ збільшеними порівняно з інтактними мишами були лише вагові та клітинні характеристики селезінки і ПЛВ, що, швидше за все, є наслідком залишкової пухлинної хвороби. Важливо, що на 40-ву добу після операції лише у вакцинованих мишей збільшилася кількість перитоніальних Мф.

Таким чином, виразний антиметастатичний ефект за умови використання ксеногенної ПВ в оперованих із приводу меланоми В-16 мишей зумовлений, на наш погляд, активацією моноцитарно-макрофагальної ланки протипухлинного імунітету. Однак таке припущення потребує подальшого детального дослідження.

### 667. Дослідження протипухлинної дії українську в експерименті на моделі гліоми (штамм 101.8) мозку шурів

А.І. Ключикова, В.М. Семенова, М.І. Лісяний

ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН  
України», Київ

Незадовільні результати комбінованого лікування нейроонкологічних хворих обґрунтовують пошук антибластичних препаратів серед сполук рослинного та мікробного походження, які використовуються в загальній онкології з позитивним лікувальним ефектом. Серед них увагу привертає україн, який містить алкалоїди чистотілу і тіофосфору кислоту. Відомо, що чистотіл поряд із протипухлинними властивостями виявляє також імуностимулюючий вплив на Т-клітинну ланку імунної системи. Застосування україну в нейроонкології не досліджувалося і потребує попереднього вивчення під час експерименту. Відповідно мета роботи полягала в дослідженні впливу україну на тривалість життя шурів з експериментальною злоякісною гліомою (штам 101.8) та оцінці проявів лікувального патоморфозу в пухлині лікованих шурів.

Щурам із гліомою мозку вводили україн внутрішньом'язово (0,5 мкг в об'ємі 0,2 мл) на 5-ту, 7-му, 10-ту, 13-ту та 15-ту добу. Контрольним тваринам вводили фізрочин. В обох групах оцінювали тривалість життя тварин. Після забою шурів на 18-ту добу їх мозок вилучали з порожнини черепа для традиційної гістологічної обробки.

Встановлено, що тривалість життя шурів із гліомою мозку в контрольних тварин становила  $14,5 \pm 0,5$  днів, а в групі тварин, які отримували україн, —  $24,5 \pm 3,78$  доби, що відображає вірогідне збільшення терміну життя шурів у середньому на 10 днів після лікування україном. При гістологічному дослідженні гліоми мозку контрольних тварин відзначалась шільноклітинна структура з чисельними мітозами. Через 18 днів після лікування шурів україном у тканині гліоми з'явилися ознаки як деструктивної, так і цитостатичної дії препарату у вигляді посилення некрозоутворення та зниження проліфераційної активності пухлини з появою «лікувальних» гігантів і токсичних форм мітозів, блокованих у К-метафазі.

Отримані результати показали, що україн подовжує термін життя шурів з експериментальною гліомою мозку шляхом прямої токсичної дії на пухлину.

### 668. Чутливість карциноми легені Льюїс до антиангіогенної терапії корелює зі здатністю пухлинних клітин до аутофагії

Д.Л. Колесник, О.М. Пяковська, Н.А. Трегубова, Г.І. Соляник

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім.  
Р.Є. Кавецького НАН України, Київ

Підвищення ефективності протипухлинної антиангіогенної терапії (ПАТ) пов'язують зі встановленням маркерів чутливості пухлини до її дії, серед яких важливе місце посідають показники чутливості пухлинних клітин до дефіциту поживних субстратів. Мета роботи полягала в дослідженні *in vitro* впливу дефіциту поживних речовин на проліферативну активність та виживаність клітин 2 варіантів карциноми легені Льюїс із різною чутливістю до ПАТ.

Клітини резистентного (LLC) та чутливого (LLC/R9) до ПАТ варіантів карциноми легені Льюїс довгостроково інкубували в умовах нормоксії без заміни поживного середовища. Досліджували кінетику росту та виживаність клітин. Оцінку їх здатності до макроаутофагії проводили за допомогою електронної мікроскопії та з використанням інгібітора аутофагії пропіламіну.

Встановлено, що в умовах прогресивного зниження рівня глюкози в середовищі інкубації швидкість споживання глюкози клітинами LLC/R9 та швидкість їх загибелі вища, ніж клітинами LLC, на 64 та 90% ( $p < 0,05$ ) відповідно. На пізніх стадіях культивування, за умови повного виснаження середовища на поживні речовини, клітини LLC/R9, на відміну від LLC, проявляли більшу виживаність за рахунок макроаутофагії — кількість аутофагосом та аутофаголізосом у клітинах LLC/R9 на 8-му добу була суттєво вища, у той час як на 3-тю та 5-ту добу інкубування таких відмінностей між LLC/R9 та LLC зафіксовано не було. Висока здатність клітин LLC/R9 до аутофагії підтверджувалася зниженням на 45%  $IC_{50}$  для пропіламіну в разі інкубування цих клітин у розчині Хенксу порівняно з таким при їх інкубуванні в повному поживному середовищі. Для клітин LLC таке зниження становило лише 16%.

Чутливий до ПАТ варіант карциноми Льюїс, на відміну від резистентного, характеризується високою чутливістю до дефіциту поживних речовин та проявляє високу здатність до аутофагії.

### 669. Інтерферон-альфа як модифікатор епітеліально-мезенхімального переходу пухлинних клітин людини

Ю.Й. Кудрявець, Н.О. Безденісжих, О.О. Лихова, Н.І. Семесюк,  
Н.Ю. Лук'янова, А.Л. Воронцова

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім.  
Р.Є. Кавецького НАН України, Київ

Нині актуальним є пошук модифікаторів пухлинної прогресії та інгібіторів так званого епітеліально-мезенхімального

переходу (ЕМП) пухлинних клітин, що лежить в основі формування їх метастатичного фенотипу. Відповідно мета роботи – дослідити вплив ІФН на фенотипові ознаки пухлинних клітин, які є характерними рисами ЕМП.

Об'єкти: клітинні лінії людини: А-549 (рак легені), HeLa (карцинома шийки матки), Т-47D (рак молочної залози), К-562 (хронічна мієлоїдна лейкемія). Методи: культура клітин, світлова мікроскопія, імуноцитохімія.

Встановлено, що тривала експозиція пухлинних клітин з ІФН в культурі супроводжується достовірним збільшенням клітин із виразними епітеліальними фенотиповими ознаками і значним пригніченням у них прояву мезенхімальних ознак. В ІФН-модифікованих клітинах А-549 відзначається зменшення кількості клітин, що експресують віментин, та різке збільшення Е-кадгерин-позитивних клітин. Ці зміни також супроводжуються зростанням експресії цитокератинів у клітинах, збільшенням їх адгезивності та практично повною втратою ними здатності до колонієутворення в агарі. Така ж тенденція визначається і при експозиції з ІФН клітин інших ліній: в ІФН-модифікованих клітинах HeLa різко зростає кількість Е-кадгерин-позитивних клітин та достовірно зменшується кількість N-кадгерин-позитивних клітин, у модифікованих цитокіном клітинах К-562 виявляється *de novo* експресія Е-кадгерина, відсутнього в клітинах вихідної лінії. Модифікація пухлинних клітин ІФН супроводжується також значним пригніченням експресії EGF-R, який відіграє важливу роль у процесі ЕМП пухлинних клітин, та падінням продукції VEGF. Таким чином, тривала експозиція пухлинних клітин з ІФН призводить до пригнічення експресії білків, притаманних агресивним пухлинним клітинам із мезенхімальним фенотипом, та стимулює експресію білків, характерних для клітин з епітеліальним фенотипом. Такі характерні зміни фенотипу клітин свідчать про пригнічення в них процесу епітеліально-мезенхімального переходу під дією ІФН.

Пригнічення ІФН процесу епітеліально-мезенхімального переходу можна розглядати як новий механізм протипухлинної та антиметастатичної дії цього цитокіну.

#### 670. Клітинна лінія МКС з аденокарциноми молочної залози щура як модель для дослідження механізмів епітеліально-мезенхімального переходу пухлинних клітин

Ю.Й. Кудрявець, Н.О. Бездєсних, О.А. Ковальова, О.О. Лихова, Н.І. Семесюк, Н.Ю. Лук'янова, А.Л. Воронцова, В.Ф. Чехун  
 Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ

Нині існує певний дефіцит клітинних моделей для дослідження молекулярних механізмів епітеліально-мезенхімального переходу (ЕМП) — процесу, який обумовлює формування метастатичного фенотипу пухлинних клітин. Відповідно мета роботи полягала в дослідженні біологічних, морфологічних та імунофенотипових характеристик пухлинних клітин лінії МКС як моделі ЕМП.

Об'єкт: клітинні лінії МКС, її сублінії і клони з різними морфологічними характеристиками. Методи: культура клітин, світлова й електронна мікроскопія, імуноцитохімічний і цитогенетичний аналіз.

Особливістю клітин нової лінії МКС є імортальність, епітеліальна морфологія та ультраструктура, відсутність анеуплоїдії, контактне гальмування росту, здатність до диференціювання і формування органічних структур *in vitro*, а також нездатність до росту в агарі, низька туморогенність і продукція VEGF. У мезенхімальних трансформантів МКС різко зростають туморогенність, здатність до росту в агарі, продукція VEGF, але зникають ознаки диференціювання і контактне гальмування. Для клітин субліній і клонів МКС з «епітеліальною» морфологією характерна експресія Е-кадгерину, серії цитокератинів та суттєве пригнічення експресії м'язового актину і віментину, тоді як для клітин МКС із «мезенхімальним» фенотипом — відсутність експресії

Е-кадгерину, зміна експресії кератинів та наявність експресії м-актину, віментину і поява маркеру стовбурових клітин CD44, що свідчить про реалізацію процесу ЕМП. При дослідженні чутливості клітин субліній і клонів МКС до протипухлинних препаратів різних класів встановлено, що формування «мезенхімального» фенотипу супроводжується значним зростанням резистентності клітин до дії більшості хіміопрепаратів (у 10–40 разів). Вже на ранніх етапах формування фенотипу ЕМП у клітинах МКС виявляється комплекс цитогенетичних характеристик, асоційованих із малігнізацією: активна проліферація, зростання гетероплоїдії, накопичення ядерних аномалій і псевдометафаз.

Отримано нову модель для дослідження механізмів запуску та контролю процесу ЕМП пухлинних клітин в умовах *in vitro* та *in vivo*.

#### 671. Клиническое значение изменений в иммунном статусе больных глиомами различной степени анаплазии

Н.И. Лисяный, И.А. Гнедкова, М.А. Гнедкова, О.В. Маркова, В.Д. Розуменко, А.Я. Главацкий, А.Н. Шмелева, Т.А. Мальшьева  
 ДУ «Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова», Киев

Целью исследований являлось выяснение клинического значения особенностей иммунного статуса больных глиомами. Изучали адгезивную активность мононуклеаров периферической крови (МПК) к пластику, цитотоксическую активность (ЦА) Мн/Мф и ЦТЛ — МТТ-методом; пролиферативный ответ лимфоцитов на Т- и В-митогены в РБТЛ, супрессорную активность (СА) регуляторных лимфоцитов (РЛ) — методом двойной РБТЛ и Мн/Мф — в тесте с индометацином (Им) у 280 пациентов с глиомами. Установлено, что у больных глиомами с увеличением степени анаплазии глиомы и при продолженном росте (ПР) снижалась супрессорная активность РЛ пропорционально увеличению степени анаплазии глиомы, а также активность ЦТЛ на аутологичные опухолевые клетки. Культивирование Мн/Мф больных на пластиковых чашках 30 мин или добавление лектина арахиса (PNA) **восстанавливает** их ЦА. Короткая ремиссия (Р) (<3 мес) или ПР сопровождалась высокими значениями пролиферативного ответа лф на ФГА (>60%) и снижением или отсутствием супрессорной активности РЛ Им Мн/Мф. Длительная ремиссия (>15 мес) сопровождалась низким значением БТ на ФГА (<40%) и сохраненной супрессорной активностью РЛ и Им Мн/Мф. При ПР глиомы было отмечено снижение или отсутствие супрессорной активности у РЛ и Им Мн/Мф.

Высказано предположение о решающей роли Мн/Мф в восстановлении эффективного противоопухолевого ответа у больных глиомами.

#### 672. Генотоксичність наночастинок ферромагнетиту та магнітного поля в системі *in vivo*

Ю.В. Лозовська, І.М. Тодор, Д.В. Демаш, Н.Ю. Лук'янова, І.К. Хасцький, Л.А. Налескіна, В.Ф. Чехун

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ

У наш час у всьому світі значна увага приділяється перспективам розвитку нанотехнологій. Речовини у вигляді наночастинок мають властивості, що відрізняються від їх аналогів у формі макроскопічних дисперсій, і є недостатньо вивченим фактором. Тому пошуки методів оцінки ризику можливого негативного впливу наноматеріалів — одне з важливих питань сьогодення. Мета нашої роботи полягала в дослідженні генотоксичної дії наночастинок ферромагнетиту (ФМ) в ліпосомній формі на фоні та без впливу магнітного поля (МП) в інтактних мишей та тварин з асцитною карциномою Ерліха (АКЕ).

Досліджено вплив ФМ у разовій дозі 3 мг/кг ваги тварини, МП з індукцією 145–160 мТл протягом 1 год та комбінованої їх дії в інтактних мишей та мишей з АКЕ через 1 та 24 год. Аналіз препаратів кісткового мозку (КМ) проводили за методом Hayashi. Ступінь ураження ДНК лімфоцитів периферичної

крові та клітин АКЕ визначали за методом лужного гель-електрофорезу ізольованих клітин.

Вірогідне зростання кількості мікроядер (МЯ) та одночасне зменшення співвідношення між зрілими еритроцитами КМ тварин відзначалося після 24 год впливу ФМ та МП, що є свідченням більш вираженої гено- та цитотоксичності цих факторів. У групі тварин з АКЕ визначено аналогічну тенденцію змін морфології клітин еритроїдного ряду під впливом ФМ, МП та їх одночасної дії, але більш суттєві зміни виявлено у тварин через 24 год впливу, що підтверджується зростанням кількості МЯ не тільки в незрілих, а й у зрілих еритроцитах. Визначення ступеня ураження ДНК лімфоцитів периферичної крові мишей не показало достовірних відмінностей «% ДНК у хвості комети» між дослідженими групами. Достовірне зростання «% ДНК у хвості комети» відзначалося у клітинах АКЕ тварин, які зазнали 24-годинного впливу ФМ на фоні та без застосування МП (до 22,1 та 20,9%, відповідно).

Комплексне дослідження продемонструвало, що під впливом ФМ на фоні та без МП в інтактних мишей та тварин з АКЕ виявляється значне порушення стабільності геному клітин еритроїдного ряду КМ. Суттєвіші зміни визначені у тварин з АКЕ. 24-годинний вплив ФМ незалежно від дії МП викликає виражене пошкодження ДНК клітин АКЕ. Робота підтримана договором № 5.18.3.53 Державної цільової науково-технічної програми «Нанотехнології та наноматеріали» на 2010–2014 рр.

### 673. Особливості пошкодження ДНК у чутливих та резистентних до протипухлинних препаратів клітинах унаслідок дії наночастинок феромагнетиту та магнітного поля в системі *in vitro*

Н.Ю. Лук'янова, Д.В. Демаш, Л.А. Налескіна, В.Ф. Чехун

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ

Нині одним із перспективних способів подолання лікарської резистентності вважають використання нанокоспозитів на основі феромагнетиків (ФМ) у комбінації із зовнішнім магнітним полем (МП). У той же час відомо, що в біологічних об'єктах ФМ здатні індукувати утворення вільних радикалів і викликати пошкодження ДНК. Мета роботи полягала в дослідженні в системі *in vitro* особливостей пошкодження ДНК у чутливих та резистентних до протипухлинних препаратів клітинах лінії MCF-7 раку молочної залози людини під впливом наночастинок ФМ у комбінації з МП.

Об'єктом дослідження були чутливі (MCF-7/S) та резистентні до цисплатину (MCF-7/CP) і доксорубіцину (MCF-7/Dox) клітини раку молочної залози людини, які інкубували з наночастинами ФМ у концентрації 50 мкг/мл при дії зовнішнього МП з індукцією 150 мТл протягом 24 год. Ступінь ураження ДНК оцінювали за допомогою загальноновизнаного методу лужного гель-електрофорезу ізольованих клітин.

Встановлено, що «% ДНК у хвості комети» в клітинах MCF-7/S під впливом ФМ на фоні МП становить 14,5%, а під впливом ФМ — 13,0%, відповідно. У той час як у клітинах MCF-7/CP під впливом ФМ на фоні МП та ФМ «% ДНК у хвості комети» становив лише 11,2 та 9,6% відповідно, що пов'язано з активацією глутатіонової системи, яка відповідає за нейтралізацію активних форм кисню. На протипагу цьому в клітинах лінії MCF-7/Dox «% ДНК у хвості комети» під впливом ФМ на фоні МП — 19,2%, а під впливом ФМ — 21,7%, що значно перевищує ці показники в клітинах MCF-7/S та MCF-7/CP і свідчить про більш виражений генотоксичний вплив цих чинників. Не виключено, що найвищий ступінь пошкодження ДНК клітин, резистентних до доксорубіцину, може бути пов'язаний із низькою активністю ферментів антиоксидантного захисту (каталази та супероксиддисмутаз) в клітинах цієї лінії.

Встановлено, що дія ФМ та МП призводить до пошкодження ДНК у клітинах лінії MCF-7 раку молочної залози людини незалежно від їх чутливості до цитостатиків. Відповідь щодо

різного ступеня прояву пошкоджуючого ефекту досліджених чинників у чутливих та резистентних пухлинних клітинах слід шукати в механізмах його формування, безперечно, пов'язаних з особливостями біології цих клітин.

### 674. Дослідження впливу супернатанту прогеніторних нейроклітин щура на пухлини головного мозку *in vivo* та *in vitro*

Л.Д. Любич, М.І. Лісяний, В.М. Семенова

ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України», Київ

Незадовільні результати лікування нейроонкологічних хворих вимагають розробки новітніх клітинно-молекулярних технологій із залученням методів біотерапії. Відомо, що нейральні стовбурові і прогеніторні клітини можуть проявляти протипухлинну дію та характеризуються тропністю до злоякісних пухлин мозку, зокрема гліом. Мета роботи полягала в дослідженні протипухлинних властивостей гуморальних факторів, отриманих із клітин фетального мозку щурів, відносно гліом *in vitro* та *in vivo*.

Супернатант (СНК) отримували з нейроклітин (НК) щура 12–16 доби гестації (E12–16). Дію СНК *in vitro* вивчали в короткострокових культурах (24 год) свіжовиділених клітин із зразків пухлин головного мозку (n=30) та периферичної крові хворих із гліомами мозку (n=30), а також на первинних культурах гліом людини. Дію СНК *in vivo* розглядали при внутрішньоочеревинному введенні СНК щурам (n=159) з перивісної гліомою 101.8A у різних режимах. СНК щура практично не впливав на моноклеари здорових осіб та несуттєво впливав на моноклеари хворих з гліомами, дещо збільшуючи життєздатність і зменшуючи кількість клітин у стані апоптозу (PI+). У суспензійних короткотермінових та первинних культурах гліом СНК виявив цитотоксичну дію зі зниженням частки життєздатних клітин у середньому на 28–35%, а в деяких із них запуская реалізацію механізмів апоптичної загибелі. У первинних культурах гліом після інкубації із СНК відзначалося зменшення міграційної та проліферативної активності пухлинних клітин із появою в них дистрофічних і некробіотичних змін на тлі розрідження загальної структури зони росту. Цей феномен посилювався зі збільшенням тривалості інкубації культури із СНК до 48 год та зростанням ступеня анаплазії пухлин. Внутрішньоочеревинне введення СНК у різних режимах сприяло подовженню терміну виживання тварин із гліомою 101.8A. Попередня інкубація клітин пухлини 101.8A у присутності СНК щура значно знижувала пухлинноіндукуючу здатність клітин гліоми і сприяла подовженню виживання тварин.

СНК (E12–16) щура чинить цитотоксичну та проапоптогенну дію на клітини пухлин мозку і модулює функційні показники імунокомпетентних клітин *in vivo*. Передумовою такого впливу, очевидно, є здатність ембріональних нейроклітин до продукції цитокінів (IL-1 $\alpha$ , -1 $\beta$ , TGF- $\beta$ 1, - $\beta$ 2, TNF- $\alpha$ ) або інших гуморальних чинників.

### 675. Модифікація вільнорадикальних процесів при комбінованій дії екзогенних оксидів азоту та малих доз іонізуючої радіації

В.М. Михайленко, О.А. Главін, М.О. Дружчина, О.Б. Ганжа,

Л.І. Маковецька, Л.О. Слейко-Хемич, Б.І. Герашенко

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ

Оксиди азоту (ОА) та малі дози іонізуючої радіації (МДІР) є поширеними забруднювачами навколишнього середовища, що модифікують вільнорадикальні процеси і можуть викликати порушення, пов'язані з розвитком онкологічних захворювань. Метою роботи було дослідити показники, що визначають стан вільнорадикального гомеостазу при комбінованій дії екзогенних ОА і МДІР.

Дослідження виконано на 4 групах білих нелінійних щурів: 1) інтактний контроль; 2) інгаляція ОА (1 міс, 14 год/добу, 150 мг/м<sup>3</sup> повітря по NO); 3) МДІР ( $\gamma$ -опромінення 10 разів



по 0,1 Гр, раз на 3 доби); 4) дія МДІР+ОА. У крові і печінці визначали загальне утворення реактивних форм кисню та азоту (РФ); інтенсивність перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) та активність ферментів супероксиддисмутази (СОД) і каталази (КАТ). Також у печінці виявили інтенсивність генерації супероксидного аніон-радикала (СР), а в крові — зміни профілю ліпопротеїнів методом ЯМР-спектроскопії.

У крові тварин, що зазнали впливу ОА, відзначалась інтенсифікація ПОЛ (в 1,3–1,8 рази) та значно підвищувалась продукція РФ (до 3 разів для групи ОА). Менш виражена активність утворення РФ (в 1,6 рази) відмічалась при комбінованій дії ОА і МДІР, що може бути обумовлено зростанням частки ліпопротеїнів високої густини, здатних попереджати ензиматичне утворення СР. У печінці, навпаки, не виявлялись значні зміни ПОЛ, а генерація РФ у групах ОА та ОА+МДІР була знижена на 27–36%. Це корелює з вираженою активацією КАТ і СОД. Активація СОД в 2,6 рази в групі ОА призводила до уповільнення генерації СР у печінці майже в 2 рази, на відміну від груп МДІР та МДІР+ОА, де його утворення було в 1,3–1,6 рази вищим, ніж в інтактних тварин.

Таким чином, дія ОА та/або МДІР супроводжується тканинспецифічними порушеннями вільнорадикального гомеостазу, що може негативно впливати на стан протипухлинної резистентності організму.

## 676. Експериментальное обоснование и практическое применение интегральной терапии для реабилитации, профилактики и лечения опухолевой болезни

*В.С. Мосиенко, Л.К. Куртсеитов, М.Д. Мосиенко  
Институт экспериментальной патологии, онкологии  
и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев*

В XXI в. научная парадигма в естествознании претерпевает кардинальные изменения. Основой для этого послужили фундаментальные открытия, сделанные в прошлом столетии в разных областях знаний, в том числе в физике и медицине. Цель работы заключалась в обосновании интегрального метода лечения опухолевой болезни и других хронических заболеваний на основании экспериментальных и клинических данных.

Изучали кислородный обмен в опухолевых и нормальных тканях, водно-структурный гомеостаз в нормальных тканях организма, иммунные механизмы и питание больных со злокачественными опухолями.

Будут приведены многочисленные экспериментальные и клинические результаты лечения и реабилитации больных с помощью интегральной терапии опухолевой болезни, при которой человеческий организм рассматривается как саморегулирующаяся, самовосстанавливающаяся система.

Для повышения эффективности лечения и реабилитации онкологических больных вместо деструктивной цитотоксической противоопухолевой терапии предлагается новый, оригинальный и перспективный интегральный метод.

## 677. Морфологічні ефекти дії феромагнетиту та магнітного поля в системі *in vivo*

*Л.А. Налескіна, Л.З. Полюк, Н.В. Бородай, І.М. Тодор,  
І.К. Хасцький, В.Ф. Чехун*

*Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им.  
Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Київ*

Широке впровадження нанотехнологій в онкологію вимагає проведення великого обсягу систематизованих експериментальних досліджень, спрямованих на визначення токсичного впливу феромагнетиків (ФМ) та магнітного поля (МП), які останнім часом активно апробуються як перспективні складові нанокомпозитів для таргетної доставки протипухлинних препаратів в органи-мішені. Метою роботи було визначення морфологічних ознак змін у внутрішніх органах мишей з асцитною карциномою Ерліха (АКЕ) під впливом ФМ, МП та поєднаної дії цих чинників.

Досліджено тканини печінки, селезінки та нирок мишей з АКЕ, розподілених на 3 групи залежно від впливу наступних чинників: 1 — внутрішньовенне введення 3 мг/кг ФМ у ліпосомній формі; 2 — вплив МП з індукцією 145–160 мТл; 3 — поєднана дія ФМ та МП. Тривалість впливу чинників — 1 та 24 год.

Встановлено, що в результаті дії лише МП протягом 1 год у печінці, нирках та селезінці тварин з АКЕ переважно виявлялись зміни в судинному руслі: розширення судин та синусів, їх кровонаповнення, явища застою, плазмолізу та гемолізу, які зменшувались після 24-годинного впливу. Основним наслідком дії ФМ через 1 та 24 год були дистрофічні зміни в епітелії досліджених органів, виразність яких залежала від тривалості впливу цього чинника. Комбінована дія ФМ та МП протягом зазначених термінів призводила як до дистрофічних змін в епітелії досліджених органів, так і до порушень у судинному руслі, які зберігались через 24 год впливу цих агентів. У той же час дія МП не сприяла підсиленню морфологічних змін, що відзначалось під впливом ФМ. Слід звернути увагу на те, що аналогічний характер змін у життєво важливих органах із дозозалежним ефектом та тенденцією до відновлення пошкоджених тканин із часом встановлено в інтактних мишей при оцінці гострої токсичності різних доз ФМ та впливу зовнішнього МП.

В експериментах *in vivo*, спрямованих на дослідження впливу ФМ та МП на внутрішні органи піддослідних тварин, показано структурно-функціональні зміни, що відбуваються залежно від тривалості їх дії, а також засвідчено, що МП не сприяє посиленню зазначених ефектів.

## 678. Можливості сучасної сорбційної терапії в онкології

*В.Г. Ніколасв, Л.О. Сахно*

*Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им.  
Р.Е. Кавецкого, НАН Украины, Київ*

Нині накопичено значний досвід використання основних методів сорбційної терапії — гемосорбції, ентеросорбції та аплікаційної сорбції — у хворих зі злоякісними новоутвореннями. Створення нової генерації сорбентів медичного призначення та розробка оригінальних підходів до їх використання розширює коло задач, що можуть бути розв'язані за допомогою сорбційної терапії.

Делігандизуючі гемосорбенти (ГСГД), ефективно видаляючи в процесі гемосорбції білок-зв'язані токсичні метаболіти, дозволяють одержати у хворих із гнійно-септичними ускладненнями, цитостатичними міокардитами і гепатитами, нирковою недостатністю якісно нові терапевтичні ефекти, пов'язані з глибоким очищенням білків та мембран клітин крові. Сорбційна система на основі ГСГД здатна забезпечити потужний сорбційний бар'єр, обмежуючи попадання цитостатиків у системний кровообіг, що дає можливість регіонарного підведення до пухлини масивних доз цитостатиків без ризику системних токсичних ефектів. Шляхом екстракорпорального видалення на ГСГД незамінних амінокислот, наприклад L-триптофана, може бути здійснено модулююче втручання в метаболічні відношення пухлини й організму. Протипухлинні агенти в комплексі із сироватковим альбуміном людини після його *ex tempore* очищення на ГСГД або глибока сорбційна делігандизація власного альбуміну хворого безпосередньо перед початком хіміотерапії можуть бути використані для зниження системної токсичності цитостатиків.

Ентеросорбція з використанням вуглецевих ентеросорбентів IV покоління Карболайн у процесі хіміотерапії пом'якшує симптоми гастроентеропатії, зменшує цитостатичну мієлодепресію, покращує детоксикаційну функцію печінки, що забезпечує можливість збільшення числа курсів хіміотерапії. Після опромінення ентеросорбція в 1,5–2 рази скорочує строки пострадіаційної лейкопенії. Висока активність Карболайну стосовно бактеріальних ендотоксинів обумовлює доцільність його використання для профілактики транслокації бактеріальних ендотоксинів та їх масивного надходжен-

ня в системний кровообіг. Доведено ефективність методу ентеросорбції для профілактики гострої та відстроченої еметогенної токсичності поліхіміотерапії.

Багаторічне вивчення медико-біологічних механізмів аплікаційно-сорбційної терапії завершилось розробкою ефективних підходів до використання аплікаційних сорбентів для профілактики і лікування гнійно-запальних та пострадіаційних ускладнень, покращення результатів аутодермопластики шкіряних дефектів після хірургічного видалення меланому на тлі попередньої терморадіаційної обробки вражених ділянок.

### 679. Особенности гистологической структуры рака эндометрия при метилировании генов *gst*, *esr* и наличии микросателлитной нестабильности

*Е.М. Олешко, А.Г. Калаева, М.А. Карташова*

*Харьковская медицинская академия последипломного образования*

Стало очевидным, что процесс превращения нормальной клетки в опухолевую обусловлен накоплением мутаций группы генов, ответственных за контроль над пролиферацией, апоптозом, ангиогенезом, репарацией ДНК и стабильностью генома. Эпигенетические нарушения генов *GST*, *ESR* и наличие микросателлитной нестабильности (МСН) могут служить в качестве биологических маркеров, определяющих особенности опухоли при раке эндометрия (РЭ). Цель работы — изучить метилирование генов *GST*, *ESR* и наличие МСН у больных РЭ с различной гистоструктурой и степенью дифференцировки опухоли.

Обследовано 159 пациенток с РЭ I–III стадий: 122 больные имели эндометриодную, а 37 — неэндометриодную гистоструктуру. Среди пациенток с эндометриодным раком  $G_1$  аденокарцинома была в 41 наблюдении,  $G_2$  — 46 и  $G_3$  — 35. Возраст больных колебался от 31 до 79 лет. Методом полимеразно-цепной реакции было изучено наличие метилирования генов *GST*, *ESR* (сыворотка крови) и наличие МСН (сыворотка крови, ткань).

Установлено, что частота метилирования гена *GST* была выше у пациенток с неэндометриодными формами рака (51,4%) по сравнению с эндометриодными карциномами (31,1%). Наибольшая частота метилирования гена *GST* обнаружена у пациенток с  $G_3$ -карциномой. Метилирование гена *ESR* было широко представлено у больных с эндометриодными формами рака (58,2%). Наибольшая частота изменений этого гена выявлена среди пациенток с  $G_1$ - и  $G_2$ -аденокарциномами (68,3 и 65,2% соответственно). Показатель больных с  $G_3$ -аденокарциномой составил 38,2%. При неэндометриодных формах РЭ частота метилирования гена *ESR* была зарегистрирована в 32,4%.

Наличие МСН выявлено у 25,4% больных эндометриодными аденокарциномами, при этом отмечена тенденция к возрастанию количества МСН у больных с  $G_2$ - и  $G_3$ -формами по сравнению с  $G_1$ -опухольями: 28,3, 29,4 и 19,5% соответственно.

1. Для эндометриодных форм РЭ характерны метилирование гена *ESR* и наличие МСН, а для рака неэндометриодного происхождения — гена *GST*.

2. Метилирование гена *GST* чаще встречается у больных с  $G_3$  опухолями. Нарушения гена *ESR* и наличие МСН коррелируют с более дифференцированными формами ( $G_1$  и  $G_2$ ) РЭ.

### 680. Изучение противоопухолевого эффекта механомагнетохимически синтезированного наноконструкта на экспериментальных моделях опухолевого процесса

*В.Э. Орел, Н.Н. Дзятковская, Н.А. Николов, А.В. Романов, А.Ю. Рыхальский, И.Б. Щепотин*

*Национальный институт рака Министерства здравоохранения Украины, Киев*

Экспериментальные и клинические исследования, проведенные за последние 10 лет, свидетельствуют о перспективе использования в качестве противоопухолевых лекарств магниточувствительных наноконструктов (МНК) на основе наночастиц оксида железа (магнетита) и противоопухолевого антрациклинового антибиотика доксорубицина (ДР). Цель работы — изучить противоопухолевую эффективность МНК

из наночастиц оксида железа и ДР на ряде экспериментальных моделей опухолевого роста.

Механо-магнето-химический синтез ДР («Pfizer», Италия) с наночастицами (Институт электросварки им. Е.О. Патона НАН Украины) или ионами оксида железа либо радиофармпрепаратом (РФП)  $^{99m}\text{Tc}$ -пирфотех был проведен в оригинальном механо-магнето-химическом реакторе. В исследованиях использовали мышей линии C57BL/6 и белых неинбредных крыс. Животные были разделены на 5 групп: 1 — контрольная (без воздействия); 2 — введение официального (ОФ) ДР; 3 — введение ОФ ДР и локальная радиочастотная гипертермия (ЛРГ) аппаратом «Магнитерм»; 4 — введение МНК и 5 — введение МНК, локализация МНК в опухоли постоянным магнитным полем (ПМП) и ЛРГ. Нелинейная динамика объема опухоли карциномы Герена, карциномы легкого Льюиса и карциносаркомы Уокера-256 была оценена с помощью фактора и коэффициента торможения роста опухоли в соответствии с автокаталитическим уравнением.

Наши исследования свидетельствуют об изменениях нелинейной динамики роста карциномы Герена, карциномы легкого Льюиса и карциносаркомы Уокера-256 под влиянием МНК, МНК и ЛРГ. По данным скинтиграфических исследований, зарегистрировано накопление МНК, меченного РФП, непосредственно в карциносаркоме Уокера-256. Фактор роста опухоли для карциномы Герена и карциномы легкого Льюиса был минимальным, а коэффициент торможения роста опухоли — максимальным после введения МНК и локализации его ПМП в опухоли и последующей ЛРГ.

Исследование карциномы легкого Льюиса, карциномы Герена показало, что механомагнетохимически синтезированный МНК под влиянием ПМП и ЛРГ имеет более высокий противоопухолевый эффект, чем ОФ ДР.

### 681. Гіпоксія в пухлині і в організмі-пухлиноносії: молекулярні, біологічні та клінічні аспекти

*С.М. Пащенко, А.С. Пащенко*

*Запорізька медична академія післядипломної освіти*

221

Гіпоксія відзначається в більшості пухлин людини. Клінічні дослідження з використанням чутливих до кисню електродів і молекулярних маркерів показали, що оксигенація тканини пухлини вкрай не однорідна. Гіпоксія пов'язана з поганим прогнозом, погіршенням захисних реакцій організму, зниженням ефективності хіміотерапії та променевої терапії. Найважливішим наслідком гіпоксії у хворих на карциному є пухлинна прогресія. Відомо, що гіпоксія (з/без реоксигенації) сприяє нестабільності генома (через точкові мутації, ампліфікації гена і хромосомні перебудови). Вплив на пухлинні клітини як хронічної, так і гострої гіпоксії призводить до серйозних наслідків для зростаючої пухлини і може погіршити її відповідь на променевою терапію та хіміотерапію. Це пов'язано з тим, що клітини в гіпоксичних ділянках пухлини хіміорезистентні в результаті блокади мітогичного циклу і зниження метаболізму. Гіпоксія не тільки може змінювати чутливість клітин пухлини до терапії, а й впливати на злоякісність. У деяких клінічних дослідженнях показано зв'язок між гіпоксією і метастазуванням. Ці дані дозволяють припустити, що гіпоксія змінює фізіологію пухлини в бік більш агресивного фенотипу. Гіпоксія є не лише фактором прогресії, вона також визначає послаблення протипухлинної резистентності організму. Для ліквідації гіпоксії у хворих на рак на цей момент розроблено методи оксигенації, вдихання газових сумішей. Один із найбільш простих способів зменшення прояву гіпоксії в організмі-пухлиноносії є використання ефекту Веріго — Бора.

Для ліквідації гіпоксії застосовували поверхневе дихання в поєднанні із затримками дихання після видиху. У 25 хворих на меланому шкіри і 157 хворих на карциному молочної залози ( $T1-2N0-1M0$  та  $T3-4N0-2M0$ ) процедури призначалися через 6–10 днів після операції в поєднанні зі стандартними

схемами лікування. Тривалість процедур — від 2 до 8 год на добу. У групі порівняння було 45 хворих на меланому шкіри і 357 хворих на карциному молочної залози, які отримували тільки стандартне комплексне лікування. Ліквідація гіпоксії сприяла збільшенню загальної та безрецидивної виживаності. Поліпшення результатів лікування супроводжувалося збільшенням у периферичній крові пацієнтів відсоткового співвідношення та абсолютної кількості малих лімфоцитів. Нормалізація рСО<sub>2</sub> в альвеолах легенів за допомогою поверхневого дихання внаслідок ефекту Веріго — Бора може запобігати розвитку гіпоксії в тканинах і в такий спосіб підвищувати протипухлинну резистентність організму.

**682. Протипухлинна дія позаклітинного лектину *Bacillus subtilis* IMB B-7014 та його ізоформ**

*В.С. Подгорський<sup>1</sup>, Е.О. Коваленко<sup>1</sup>, Н.І. Шаркіна<sup>2</sup>, І.С. Карпова<sup>3</sup>, К.І. Гетьман<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ

<sup>2</sup>ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», Київ

<sup>3</sup>Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ

Мікробні лектини в цей час займають значне місце в пошуку засобів впливу на злоякісну проліферацію. Більшою мірою це стосується лектинів сапрофітних мікроорганізмів у зв'язку з відсутністю в останніх негативних впливів на макроорганізм. Мета роботи — дослідити вплив позаклітинного лектину сапрофітного штаму *Bacillus subtilis* IMB B-7014 на пухлинний ріст *in vitro* та *in vivo*. Матеріал та методи: мікробіологічні, біохімічні, імунологічні, онкофармакологічні, статистичні.

Позаклітинний лектин штаму *B. subtilis* IMB B-7014 належить до помірно токсичних речовин (III клас токсичності, LD<sub>50</sub> = 89,0 мг/кг, внутрішньочеревний шлях введення). У дозі 1/5 LD<sub>50</sub> лектин має значущу протипухлинну дію на карциносаркомі Уокера (W-256), саркомі 45 (S 45) та аденокарциномі молочної залози (Ca 755) — більше 50,0% гальмування пухлинного росту. З лектину методом ізоелектрофокусування одержано 3 його ізоформи, які відрізняються між собою за фізико-хімічними і біологічними характеристиками. Встановлено, що ізоформа з кислої зони рН має значну протипухлинну дію на культурі Hela (більше 50,0% гальмування будь-якого росту клітин) за відсутності токсичних властивостей. Ізоформа з нейтральної зони рН впливу на нормально та злоякісно змінені клітини не має.

Зазначений лектин та його ізоформа з кислої зони рН становлять певний інтерес для подальшого вивчення їх протипухлинної активності.

**683. Конструювання та вивчення протипухлинної ефективності вакцини на основі білків із резистентної до цисплатину пухлини**

*Г.П. Потебня, Г.В. Діденко, І.М. Восійкова, Г.С. Лісовенко, А.П. Кузьменко, Є.Г. Шпак, Л.М. Коханівська*

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ

Розробка методів імунотерапії для лікування хворих із хіміорезистентними пухлинами є дуже актуальним напрямком наукових досліджень, обумовленим клінічними потребами. Мета роботи — створити протипухлинну вакцину (ПВ) на основі поверхневих білків із клітин резистентного до цисплатину штаму карциноми легені Льюїса (КЛЛ), оцінити її терапевтичну ефективність *in vivo*.

Одержано препаративні кількості поверхневих білків із клітин резистентного до цисплатину та вихідного штаму КЛЛ. Проведено електрофоретичний аналіз одержаних білкових фракцій та вакцин, виготовлених на їх основі з використанням білоквмісного метаболіту (70,0 кДа) з культуральної рідини *B. subtilis* B-7025. Встановлено, що в резистентній пухлині значно підвищена концентрація білків з м.м. 28, 60 та 70 кДа. Методом імуноблот-аналізу показано, що сироватки крові від тварин із перешепленими вихідним і резистентним штамом КЛЛ здатні перехресно реагувати з екстрактами білків, отриманими від за-

значених пухлин. Досліджено *in vitro* модулюючу дію окремих фракцій поверхневих білків клітин резистентного штаму КЛЛ та розроблених на їх основі вакцин на ефектори протипухлинної відповіді (макрофаги, лімфоцити) та встановлено їх стимулюючий вплив. Проведено вивчення терапевтичної дії вакцин, створених на основі найбільш активних фракцій поверхневих білків, відібраних за результатами експериментів *in vitro*. У мишей лінії С57В1/6 з перешепленою КЛЛ, резистентною до цисплатину, які отримували ПВ з високомолекулярних білків гомологічної КЛЛ, відзначено вірогідну затримку росту пухлин (на 60,1%) та суттєве покращення показників виживаності.

Результати досліджень указують на перспективність одержання ефективних ПВ при пухлинах із фенотипом лікарської резистентності. Потенційними компонентами для створення ПВ можуть бути високомолекулярні білки пухлинних екстрактів.

**684. Вивчення ефективності надмалих доз протипухлинної вакцини в експериментальних умовах**

*Г.П. Потебня, Г.С. Лісовенко, Н.Л. Черемішенко, Л.І. Русанова*

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ

Зацікавлення дослідників парадоксальними ефектами надмалих доз біологічно активних речовин може сприяти створенню нових способів використання вже існуючих лікарських препаратів. Мета роботи полягала в дослідженні під час експерименту протипухлинної та антиметастатичної дії надмалих доз вакцини (ПВ), виготовленої на основі пухлиноасоційованих антигенів та ад'ювантів мікробного походження.

Досліди проводили на мишах лінії BALB/c на моделі солідної форми саркоми 37 та мишах С57В1 на моделях меланоми В-16 і метастазуючої карциноми легені Льюїса (КЛЛ). Імунізацію досліджуваною вакциною проводили за профілак-тичною або терапевтичною схемою (саркома 37, меланома В-16) або після оперативного видалення первинної пухлини (КЛЛ). ПВ використовували як у звичайних, так і в надмалих дозах (розведення 10<sup>-12</sup> та 10<sup>-60</sup>, виготовлені за сотенною шкалою).

На моделях саркоми 37, меланоми В-16 та КЛЛ показано суттєве гальмування пухлинного росту при використанні розведень ПВ, що містять 10<sup>-12</sup> та 10<sup>-60</sup> масової частки. Так, середній індекс гальмування росту саркоми 37 та меланоми В-16 при профілактичному введенні ПВ у дозі 10<sup>-60</sup> становив відповідно 58,1 та 48,3%, при терапевтичному — 56,2 та 61,8%, що суттєво перевищувало аналогічні показники при введенні ПВ у звичайних дозах. Застосування дози вакцини 10<sup>-12</sup> в прооперованих мишей із КЛЛ призводило до зменшення частоти рецидивів порівняно як із невакцинованими, так і з тими, що одержували звичайні дози ПВ. Зареєстровано вірогідне збільшення індексу інгібіції метастазування (77,2 проти 22,5%), зменшення кількості (відповідно в 2,5 і 3 рази порівняно з тваринами, у яких застосували звичайні дози ПВ, і з невакцинованими) та об'єму (в 9,0 та 20,2 разу) метастазів у легені.

Результати дослідження надмалих доз ПВ, одержаних на різних модельних пухлинах, свідчать про їх високу протипухлинну та антиметастатичну активність, яка може перевищувати ефективність нативної ПВ.

**685. Активність молекулярних форм супероксиддисмутази в пухлинах хворих на рак шлунку та товстої кишки**

*Т.В. П'ятчаніна, Л.В. Сорокіна, Д.О. Розумій*

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ

Розповсюдження раку шлунку (РШ) та товстої кишки (РТК) в Україні загострює проблему їх ранньої діагностики, причому актуальною є ідентифікація компонентів протеому, функціональна активність яких змінюється в пухлинах (П) цих локалізацій. Перерозподіл активності між ізоформами супероксиддисмутази (СОД) — ферменту-антиоксиданту з функцією пухлинного супресора — може виступати маркером стану окисних процесів,

інтенсивність яких обумовлює пухлинну прогресію. Мета роботи — охарактеризувати спектр ізоформ СОД, їх активність у П та прилеглих тканинах хворих на РШ та РТК.

Використано післяопераційний матеріал хворих на РШ та РТК. Первинні П (II—III стадії) — **помірно- та низькокодиференційовані**. За умовно нормальну тканину (УНТ) приймали макроскопічно незмінену прилеглу до П тканину. Активність ізоформ СОД тканинних екстрактів оцінювали у фотохімічній реакції в ПААГ за наявності НСТ і рибофлавіну та кількісно аналізували в інтерфейсі програми Total Lab v.2.01.

Виявлено неідентичність розподілу активності ізоформ СОД у препаратах хворих на РШ та РТК. Більший ступінь гетерогенності форм відзначали для УНТ хворих на РШ. Більша частка активності СОД усіх препаратів припадає на ізоформу CuZnСОД (50–70 кДа). У П та УНТ хворих на РШ виявлено ахроматичні зони в ділянках 24–33 кДа (активність димеру CuZnСОД). Екстракти П та УНТ лише частини хворих на РШ мають активність СОД у ділянках 73–86 кДа (відповідає тетрамеру MnСОД) і 86–97 кДа (високомолекулярні форми). Неоднозначність у змінах активності в ділянці 74–80 кДа зафіксовано для препаратів РТК порівняно з УНТ, також для них притаманні відмінності в розподілі активності ізоформ СОД розміром 30–37 кДа та 55–68 кДа (активність CuZnСОД). Наявність низькомолекулярних компонентів, позбавлених каталітичної активності, у препаратах П та УНТ хворих обох локалізацій свідчить про фрагментацію субодиниць СОД.

Проведений аналіз вказує на індивідуальний розподіл активності ізоформ СОД. Подібність ізоформного складу СОД препаратів П та УНТ свідчить про порушення регуляції інтенсивності прооксидних процесів в УНТ. Зниження рівня активності MnСОД, яка є пухлинним супресором, у П та УНТ більшої частини хворих як на РШ, так і на РТК може співвідноситися з несприятливим прогнозом перебігу захворювання.

### 686. Особливості накопичення основної та ліпосомної форми доксорубіцину в чутливих та резистентних клітинах

*Н.В. Русецька, О.В. Юрченко, В.Ф. Чехун*

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ*

Нині головною проблемою під час лікування онкологічних хворих є розвиток множинної лікарської резистентності (МЛР). Існує ряд підходів щодо підвищення ефективності відомих лікарських препаратів із використанням нових фармацевтичних технологій. Серед них ліпосоми займають одне із провідних місць як системи транспорту протипухлинних препаратів. Механізми, що призводять до модуляції лікарської резистентності під впливом ліпосомних препаратів, до кінця не визначені.

Мета роботи — дослідити та порівняти шляхи надходження основної (Dox) та ліпосомної форми доксорубіцину (LipDox) в клітини з різною чутливістю до цитотоксичної дії доксорубіцину. Матеріали та методи дослідження: клітини раку молочної залози людини MCF-7, чутливі та резистентні до дії доксорубіцину; метод культивування клітин; конфокальна мікроскопія. Було показано, що для чутливих клітин лінії MCF-7 характерним є дифузний розподіл LipDox, про що свідчить забарвлення цитоплазми з більшим вмістом крапкоподібних включень переважно в перинуклеарній зоні, у той час як Dox має ядерну локалізацію. В ядрах чутливих клітин LipDox відмічається вже через 1 год після інкубації, тоді як в ядрах резистентних клітин — **через 4 год**. У результаті проведеного дослідження з використанням ендочитозу цитохалазіна В як блокатора показано, що рівень та локалізація флуоресценції Dox не змінюються, що імовірно свідчить про потрапляння Dox у клітини шляхом простої або рецептор-опосередкованої дифузії. Натомість флуоресценція LipDox у чутливих та резистентних клітинах різко зменшується, що вказує на низький рівень накопичення препарату в клітинах внаслідок блокування ендочитозу.

Одним із механізмів більш ефективної цитотоксичної дії ліпосомного препарату є його надходження в клітини шляхом ендочитозу, що дає змогу уникнути взаємодії LipDox з мембранозв'язаним Pgp резистентних клітин та збільшити його цитотоксичний ефект.

### 687. Оцінка індивідуальної радіаційної чутливості лімфоцитів периферичної крові хворих на рак грудної залози за цитогенетичними показниками

*Н.М. Рябченко<sup>1</sup>, В.М. Михайленко<sup>1</sup>, М.Ф. Анікусько<sup>2</sup>, Г.П. Олійниченко<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ*

*<sup>2</sup>Київська міська онкологічна лікарня*

Серед хворих на рак різної локалізації відзначається значна частина осіб із підвищеною радіочутливістю нормальних клітин за цитогенетичними критеріями порівняно з практично здоровими донорами. Метою роботи було оцінити рівень цитогенетичних пошкоджень у лімфоцитах периферичної крові (ЛПК) хворих на рак грудної залози (РГЗ) за G2-тестом.

Зразки периферичної крові одержано у 44 умовно здорових жінок віком від 28 до 55 років та 51 жінки — первинних хворих на РГЗ (I–II стадії) віком від 31 до 81 років. На 47 год (G2-фаза) від початку культивування ЛПК опромінювали в дозі 0,5 Гр на апараті РУМ-17. Приготування препаратів метафазних хромосом здійснювали за стандартною методикою.

Середньогруповий рівень спонтанного хромосомного мутагенезу в ЛПК хворих на РГЗ був вищим за показники в групі здорового контролю (1,9±0,16 і 1,1±0,14, відповідно), проте не відхилявся від середньопопуляційної норми. G2-тест, на відміну від досліджень спонтанного рівня аберацій хромосом, дає змогу оцінити ступінь радіаційної чутливості ЛПК за дії додаткового променевого навантаження в найбільш радіочутливій фазі клітинного циклу. Для опромінення ЛПК в G2-фазі характерна висока міжіндивідуальна варіабельність частоти індукованих аберацій хромосом. Коефіцієнти варіації хроматидних розривів становили 22 та 26% відповідно. Для визначення пропорції індивідуумів із нормальною та підвищеною радіаційною чутливістю ЛПК використовували значення 90-го перцентилу загального числа радіаційно-індукованих аберацій хромосом. За результатами G2-тесту встановлено, що 11% донорів із групи контролю та 38% осіб із групи хворих на РГЗ мають підвищену радіочутливість ЛПК за індукованими опроміненням цитогенетичними показниками. При цьому не виявлено достовірної кореляції між спонтанним рівнем аберацій хромосом та показниками G2-тесту у 2 групах (r2=0,07 в групі контролю та r2=0,1 в групі пацієнтів). Одержані дані можуть свідчити про генетичну детермінованість цитогенетичних показників радіаційної чутливості ЛПК на хромосомному рівні та їх прямий зв'язок з ефективністю процесів репарації радіаційно-індукованих пошкоджень ДНК.

### 688. Протипухолева ефективність комбінованого використання низьких температур і гіпертермії в експерименті

*В.Х. Самедов, В.Д. Захарьчев, А.П. Кузьменко*

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ*

*Национальная медицинская академия последипломного образования ім. П.Л.Шурика МЗ України, Київ*

Одним из путей повышения протипухолева эффективности криохирургии и гипертермии может служить комбинированное применение этих воздействий с учетом их влияния на микроциркуляцию как фактор, способствующий выживанию опухолевых клеток в зоне воздействия.

Исследования проведены на 110 животных с перевивной саркомой 37 у мышей и карциномой Герена у крыс. Криодеструкцию опухоли осуществляли на 12-й день после перевивки аппликатором 10 мм, хладагент-жидкий азот. Температура на границе опухоли и здоровой ткани -10 °С. Температурный

контроль здійснювали 2 медь-константановими термопарами в ін'єкційних иглах. Через 24 ч після криодеструкції, коли виникла виражена гіпоксія (полярографічний аналіз) і рН опухолі зсунувся в кислую сторону, проводили гіпертермію до 42–43 °С, погрюжаючи кінцівку в опухоль в водяну баню. Експозиція складала 30 мин. Полярографічний аналіз і рН-метрію здійснювали приборами ОН-102 і рН-510. Все впливання з животною здійснювали під наркозом (етаминал-натрія, 40 мг/кг). Протиопухольовий ефект у животною оцінювали общепринятыми методами.

Через 24 ч після криодеструкції опухолі рівень парціального тиску кислого в ній знизився практично до нуля ( $P < 0,05$ ), що може свідчувати про виражену гіпоксію за рахунок припинення мікроциркуляції. В ці ж терміни відбувалося зменшення рН в кислую сторону ( $P < 0,05$ ). Частота повного излечения животною з саркомой 37 і карциномой Герена після комбінованого використання низьких температур і гіпертермії складала відповідно 27,6 і 25,8% і була достовірно вище ( $P < 0,05$ ), ніж при самостійному використанні кожного лікувального фактора. Частота рецидивування в групах з комбінованим впливанням була достовірно нижче, а тривалість життя животною — вище, ніж у інших опытных групах ( $P < 0,05$ ).

Полученные результати показують на посилення протиопухольового ефекта при комбінованому використанні кріовоздействия і гіпертермії у животною з опухольми різного гістогенеза, що може служити експериментальним обоснованием використання цього методу в клінічній практиці.

### 689. Протипухлинна активність ксеногенних ембріональних протеїнів та імунoad'юванта БЦЖ

*Т.В. Симич, Л.П. Дідківська, О.М. Караман, І.М. Восійкова, Г.П. Потебня*

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ*

Мета роботи — підібрати оптимальну схему введення ембріональних протеїнів курки (ЕПК); оцінити протипухлинну активність ЕПК при комбінованому введенні з ад'ювантом (БЦЖ). Експеримент проводили на мишах лінії С57В1 з перещепленою карциномой легені Льюїс (КЛЛ) у 2 етапи: на 1-му підбирали схему введення ЕПК; на 2-му перевіряли протипухлинну ефективність ЕПК при комбінованому введенні з БЦЖ. Було використано 3 схеми введення ЕПК: на 1, 7 та 14 (група № 1); на 2, 5 та 8 (група № 2); на 7, 14 та 21 доби пухлинного росту (група № 3). ЕПК (0,3 мл/мишу, [С]=0,3 мг/мл) вводили підшкірно в ділянку спини. На 2-му етапі ЕПК (0,3 мл/мишу, [С]=0,15 мг/мл) та БЦЖ (10<sup>7</sup> КУО/мишу) вводили за схемою № 1. ЕПК отримували шляхом ЕДТА-екстракції з клітин 7-денних ембріонів курки. Оцінювали об'єм пухлинного вузла, частоту та інтенсивність метастазування, об'єм метастазів.

1-ий етап: об'єм пухлини імунізованих тварин протягом усього терміну спостереження був менший порівняно з контрольними тваринами з пухлиною (КПР). Вірогідними ці значення лише у мишей групи № 1 ( $p < 0,05$  до 20 доби, та  $p < 0,1$  з 25 до 28 доби пухлинного росту). Введення ЕПК суттєво не впливало на частоту виникнення та об'єм метастазів у дослідних тварин, проте найнижчі ці показники у мишей групи № 1; найменшою була і середня кількість метастазів, розрахована на усіх тварин у цій групі ( $p < 0,1$  порівняно з КПР,  $p < 0,05$  порівняно з групою № 2). 2-ий етап: введення ЕПК, БЦЖ чи ЕПК+БЦЖ вірогідно гальмувало пухлинний ріст. Показники метастазування цих груп були нижчі за дані контролю, але невірогідно. Результати групи ЕПК+БЦЖ вірогідно не відрізнялися від таких у групах ЕПК та БЦЖ.

Найбільший протипухлинний ефект застосування ЕПК відзначається при їх введенні на 1, 7 та 14 доби після перещеплення пухлини. Введення ЕПК у комбінації з БЦЖ суттєво не збільшує їх протипухлинну активність.

### 690. Особливості Kirsten ras-мутацій у хворих на колоректальний рак в Україні

*В.В. Сітько, Н.М. Храповська, О.О. Колесник, О.В. Скачкова, Н.М. Свєрєун, Н.В. Юнкінна*  
*Національний інститут раку, Київ*

*Kirsten ras (K-ras)* є геном родини RAS — одного з ключових білків сигнального шляху EGFR. Ген *K-ras* може бути нормального (дикого) або мутантного типу. Мутації в гені *K-ras* відзначаються в 40% хворих на колоректальний рак (КРР). Сучасні протоколи лікування хворих на КРР з використанням таргетних препаратів, дія яких направлена на блокування рецептора епідермального фактора росту (EGFR), передбачають обов'язкове визначення статусу гену *K-ras*. Наявність мутацій в цьому гені є чітким прогностичним фактором недостатньої відповіді на анти-EGFR терапію у хворих на КРР. Нині вибір методу залишається в компетенції лабораторії. Широко використовуються Laboratory Based Methods (LBM). Мета роботи — розробити метод real-time PCR на основі ARMS (Amplification Refractory Mutation System) праймерів, флуоресцентних Taqman-зондів та дослідити статус мутацій в гені *K-ras* у хворих на КРР.

Проведено аналіз 7 ключових мутацій гену *K-ras*, розташованих у кодонах 12 і 13: K12–4 Val, K12–5 Asp, K12–6 Ala, K13 Asp, K12 Cys, K12–2 Ser, K12–3 Arg. Було використано геному ДНК, отриману із зразків пухлинної тканини, зафіксованої в парафін, від 150 хворих на КРР. Розроблено дизайн ARMS-праймерів та флуоресцентних Taqman-зондів, підібрано параметри ампліфікації для проведення алей-специфічної ПЛР з детекцією результатів в режимі реального часу.

Принаймні 1 мутацію в гені *K-ras* виявлено в 23% випадків. Розподіл мутацій був наступним: G12D — 26,0%; G13D — 22,0%; G12V — 19,0%; G12C — 15,0%; G12S — 11,0%; G12A — 4,0%; G12R — 4,0%. K-RAS-мутації відзначено в зразках з дуже низькою ( $\leq 1-5\%$ ) кількістю пухлинних клітин, частота K-RAS-мутації в тканинах з дуже низьким вмістом пухлинних клітин була аналогічною тканинам з  $\geq 10\%$  пухлинних клітин. Метод алей-специфічної ПЛР має високу чутливість і специфічність, відносно простий і недорогий; постановка аналізу займає не більше 2 днів. Одержані результати підтверджені за допомогою DNA Sanger sequencing method, pyrosequencing та методу RLFP в лабораторіях Європи.

Розроблений нами метод алей-специфічної ПЛР в режимі реального часу для детекції соматичних мутацій в гені *K-ras* має високу чутливість і специфічність та не потребує підтвердження іншими методами. Одержані результати вказують на те, що виявлення мутацій в гені *K-ras* у хворих на КРР дозволить використовувати цей метод для прогнозування відповіді на анти-EGFR терапію.

### 691. Стан проокисних процесів та активність антиоксидантних ферментів у пухлинах карциноми легені Льюїс із різним ангіогенним потенціалом

*Л.В. Сорокіна, Т.В. П'ятчаніна, Г.І. Соляник*

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ*

Відомо, що виживаність пухлинних клітин (ПК) за умов метаболічного стресу, який виникає в процесі росту пухлин, значною мірою залежить від функціонування таких антиоксидантних ферментів, як супероксиддисмутаза (СОД) і каталаза (К). Мета роботи — дослідити активність СОД, К та інтенсивність ПОЛ у пухлинах карциноми легені Льюїс із низьким (LLC) та високим (R9) ангіогенним потенціалом.

Дослідження проводили в екстрактах пухлин LLC та R9 на 11-ту, 14-ту, 17-ту та 20-ту добу після перещеплення ПК мишам лінії С57/В1 та екстрактах м'язової тканини інтактних мишей (ІМТ) із використанням методу оптичної спектроскопії.

Ріст пухлин LLC та R9 супроводжується зниженням активності СОД і К у пухлинах порівняно з ІМТ. На 14-ту добу знижується активність СОД як в пухлинах LLC (на 70%,  $p < 0,05$ ), так і у R9 (65%,  $p < 0,05$ ) порівняно з відповідними величинами

активності СОД на 11-ту добу. Однак на 17-ту добу росту пухлин встановлюються відмінності — активність СОД у пухлинах R9 нижча на 66% за цей показник у пухлинах LLC ( $p < 0,05$ ). Проте на 20-ту добу рівень активності ферменту в пухлинах R9 перевищує на 112% ( $p < 0,05$ ) показник для пухлин LLC. Лише на 14-ту добу після перещеплення пухлинних клітин активність К відрізняється у пухлинах LLC достовірно (менша на 46%) від величини активності К у пухлинах R9. Порівняно з пухлинами LLC пухлини R9 характеризуються нижчим рівнем вмісту вторинних продуктів ПОЛ: на 11-ту добу росту пухлини їх вміст у R9 був нижчим на 45% ( $p < 0,05$ ), на 14-ту добу — на 52% ( $p < 0,05$ ), на 17-ту добу — на 54% ( $p < 0,05$ ), а на 20-ту добу — на 77% ( $p < 0,05$ ).

Підвищений рівень активності СОД та знижений рівень продуктів ПОЛ у пухлинах R9 (порівняно з LLC) корелює з його високим ангіогенним потенціалом.

### 692. Вплив бактеріального лектину на активність мононуклеарних фагоцитів мишей у нормі та при пухлинному рості

О.А. Танасієнко, Г.П. Потебня

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ

Раніше встановлений нами превентивний протипухлинний ефект цитотоксичних лектинів (ЦЛ) із *V. subtilis* B-7025 на експериментальних пухлинах різного гістогенезу став поштовхом у дослідженні його імуномодуючих властивостей. Мета роботи — вивчення превентивного впливу ЦЛ із *V. subtilis* B-7025 на активність перитоніальних макрофагів та моноцитів периферичної крові мишей.

Дослідження виконано на інтактних та з перещепленою саркомою 37 мишах-самицях лінії Balb/c. Рівень функціональної активності перитоніальних макрофагів оцінювали по їх здатності відновлювати нітросиній тетразолій (НСТ-тест). Цитотоксичну активність макрофагів визначали за допомогою МТТ-колориметричного методу. Для інтактних тварин у цьому тесті використовували клітини-мішені лінії L929, а для мишей із пухлиною — алогенні клітини саркоми 37. Показники периферичної крові мишей оцінювали за допомогою автоматичного гематологічного аналізатора PCE-210.

Застосування ЦЛ у дозах 0,1, 1,0 та 10 мг/кг ваги сприяло підвищенню вмісту моноцитів та гранулоцитів у периферичній крові мишей та функціональній активності перитоніальних макрофагів як в інтактних мишей, так і в пухлиноносіїв. Найбільш потужним активатором функціональної активності макрофагів виявився ЦЛ у найвищій дозі (10 мг/кг), проте навіть у 100 разів доза викликала активуючий ефект на ці ефектори неспецифічного імунітету. Цитотоксична активність перитоніальних макрофагів вже на 7-му та особливо на 14-ту добу також підвищувалась в усіх 3 групах і залишалась на 10% вищою за контрольні значення до 27-ї доби включно. При порівнянні даних цитотоксичної активності із даними НСТ-тесту не відмічалось різких відмінностей між групами щодо показника цитохімічної активності макрофагів. Посилення киснезалежного метаболізму у НСТ-тесті, яке відзначалося на 27-му добу в групах, чітко співвідноситься із тенденцією до підвищення цитотоксичності в усіх групах на цей період досліджень.

ЦЛ з *V. subtilis* B-7025 спричиняє потужний вплив на клітинну ланку неспецифічного імунітету мишей.

### 693. Інтерфероніндукуючі властивості цитотоксичного лектину бактеріального походження

О.А. Танасієнко, Г.П. Потебня, З.М. Олевінська

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ

Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ

Відомо, що ІНФ відіграє одну з ключових ролей у протипухлинному захисті організму. Інтерферогенна активація організму може бути досягнута або за рахунок його ендогенного введення, або в результаті стимуляції його синтезу

такими індукторами, як рослинні лектини фітогемаглютинін та конковалін А. Мета роботи — дослідити в системі *in vivo* інтерфероніндукуючі властивості бактеріального лектину із *V. subtilis* B-7025 в інтактних мишей та мишей із перещепленою саркомою 37.

Для дослідження впливу ЦЛ на продукцію сироваткового інтерферону в мишей застосовували дози 2,5 та 5,0 мг/кг ваги. Інтерферон у сироватці периферичної крові визначали за ступенем пригнічення цитопатичної дії вірусу везикулярного стоматиту в культурі диплоїдних фібробластів людини М-19. За титр сироваткового інтерферону вважали розведення, при якому відзначався захист 50% клітин від цитопатичної дії вірусу. Рівень інтерферону визначали в динаміці одразу після введення лектину.

Інтерфероніндукуюча активність бактеріального лектину різною мірою збільшувалась як в інтактних тварин, так і у мишей із перещепленою пухлиною, а також залежала від концентрації введеного лектину. Титри ІНФ у сироватці крові мишей-пухлиноносіїв, які отримували 0,1 мг ЦЛ, у 3–4 рази перевищували такі інтактного контролю, контролю пухлиноносіїв, а також мишей, яким вводили у 2 рази меншу дозу лектину. Важливо саме те, що лектинова індукція синтезу ІНФ у мишей із пухлиною перевищувала таку в інтактних мишей і на 6–24 год досягала максимальних значень. Титри ІНФ у сироватці цих мишей перевищували такі, індукованих лектином, інтактних мишей у 3 рази (256 проти 64). Це свідчить про те, що у мишей-пухлиноносіїв введення лектину більшою мірою мобілізує імунну відповідь організму, швидше за все, за рахунок синергічної дії лектину та різних типів клітин імуннокомпетентних органів. Показано, що зростання рівня сироваткового ІФН, викликане лектином, чітко співвідноситься з підвищенням у периферичній крові вмісту моноцитарних та гранулоцитарних клітин.

ЦЛ із *V. subtilis* B-7025 є потужними індукторами синтезу природного ІНФ, який відіграє одну з ключових ролей у протипухлинному захисті організму, а титри його у сироватці крові залежать від застосованої дози лектину.

### 694. Комбинированное действие *in vitro* на лейкозные клетки человека ионизирующего излучения и кверцетина

А.А. Фильченков<sup>1</sup>, М.П. Завелевич<sup>1</sup>, Д.Ю. Блохин<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ

<sup>2</sup> Российский онкологический научный центр ім. Н.Н. Блохина РАН, Россия

Среди эффективных модификаторов апоптоза опухолевых клеток особый интерес представляют флавоноиды растительного происхождения, которые являются малотоксичными соединениями, а также способны потенцировать цитотоксические эффекты химио- и лучевой терапии. Представляется актуальным экспериментальное доклиническое изучение эффектов флавоноидов в качестве модификаторов апоптоза. Цель работы — изучение цитотоксичности и индукции апоптоза в резистентных клетках Jurkat/A4 с фенотипом множественной лекарственной резистентности при комбинированном воздействии ионизирующего излучения и флавоноида кверцетина.

Клетки Jurkat T-лимфоblastного лейкоза человека получены из банка клеточных линий ИЭПОР НАНУ. Клональная линия Jurkat/A4 была получена ранее методом искусственной стимуляции апоптоза CD95-позитивных клеток линии Jurkat. Клетки подвергались воздействию рентгеновского излучения в дозе 10 Гр. Содержание клеток с гиподиплоидной ДНК, распределение по клеточному циклу и содержание клеток с активной формой каспазы-3 исследовали на проточном цитометре.

Предварительная инкубация клеток Jurkat/A4 с кверцетином в дозе 20 мкмоль/л за 1 сут до облучения не приводила к существенному увеличению фракции гиподиплоидных клеток и клеток с активной формой каспазы-3. Однако при этом отмечено суммарное возрастание фракции клеток в фазе

G<sub>2</sub>/M. Добавление кверцетина в той же дозе на следующие сутки после облучения приводило к аддитивному цитотоксическому эффекту, начиная с 4-х сут после облучения. На 4-е сут повышалось и содержание гиподиплоидных клеток и клеток с активной формой каспазы-3, хотя по этим показателям эффект был далек от аддитивного. Добавление кверцетина по такой же схеме к клеткам линии Jurkat приводило к существенному сокращению времени 100%-й гибели клеточной популяции вследствие облучения (5 сут по сравнению с 8 сут без кверцетина).

Комбинированное использование кверцетина и рентгеновского излучения наиболее эффективно в случае применения флавоноида после облучения.

### 695. Перекрестная устойчивость клеток сублинии Jurkat/A4 к противоопухолевым химиопрепаратам, полифенолам и ионизирующему излучению

А.А. Фильченков<sup>1</sup>, М.П. Завелевич<sup>1</sup>, Л.А. Савицкая<sup>2</sup>, Д.Ю. Блохин<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев

<sup>2</sup>Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев

<sup>3</sup>Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Россия

Резистентность опухолевых клеток к химиопрепаратам нередко является множественной. Анализ тождественных и различных цепей реализации апоптоза в случае действия химических и радиационных факторов важен для разработки методов повышения эффективности лучевой и комбинированной терапии злокачественных новообразований. Цель исследования заключалась в сравнительном анализе механизмов апоптоза, индуцированного различными воздействиями, в клетках линии Jurkat и ее клонального производного Jurkat/A4 с фенотипом множественной лекарственной резистентности.

Генетически и фенотипически стабильная клональная линия Jurkat/A4 была получена методом искусственной стимуляции апоптоза CD95-позитивных клеток Т-лимфобластного лейкоза человека линии Jurkat. Клетки линии Jurkat получены из банка клеточных линий ИЭПОР НАНУ. Клетки подвергались воздействию рентгеновского излучения в дозе 10 Гр. Содержание клеток с гиподиплоидной ДНК исследовали на проточном цитометре. Экспрессию про- и антиапоптотических белков определяли иммуоблоттингом.

Клетки Jurkat/A4 с фенотипом множественной лекарственной резистентности значительно менее чувствительны к индукции апоптоза при действии как ионизирующего излучения, так и флавоноида кверцетина по сравнению с клетками исходной линии. Фенотип множественной лекарственной резистентности в клетках Jurkat/A4 характеризуется снижением уровня экспрессии проапоптотических белков Bad и Bcl-1 и повышением уровня экспрессии антиапоптотических белков XIAP и CAS. В резистентных клетках уровни антиапоптотических белков Bcl-2 и Bcl-1 ниже, чем в клетках исходной линии. В отличие от исходной линии Jurkat, воздействие различных индукторов апоптоза на клетки резистентной линии не сопровождается изменением уровней экспрессии указанных белков.

### 696. Імуноселекція пухлинних клітин із високим клоногенним потенціалом за допомогою карцинома-специфічних трансферфакторних поліпептидів

Ф.В. Фільчаков, К.С. Шуміліна, Г.Д. Льон  
Національний інститут раку, Київ

До загальновідомих ознак злоякісного росту, що обумовлюють певну автономію пухлинних клітин, додають ще одну, пов'язану з їх здатністю ухилитися від імунологічного контролю організму. Ця ознака проявляється феноменом імуноселекції, тобто виникненням неімуногенних варіантів пухлинних клітин, та розвитком активних механізмів пригнічення протипухлинної імунної відповіді організму. За своїми характеристиками пухлинні клітини, що пройшли селекцію, певною мірою схожі на комітовані родоначальні клітини, які

є нащадками стовбурових пухлинних клітин. Мета роботи – розробити спосіб імуноселекції пухлинних клітин із високим клоногенним потенціалом шляхом індукції протипухлинного імунітету в організмі тварини – реципієнта пухлини за допомогою трансферфакторних поліпептидів (ТФ-поліпептидів), специфічних до клітин цієї пухлини.

Для індукції протективного імунітету мишам C57BL/6 вводили одноразово в дозі 200 пг/тварину карцинома-специфічний препарат ТФ-поліпептидів, отриманий із лімфоцитів шурів на 14-ту добу після внутрішньоочеревинної імунізації клітинами карциноми легені Льюїс (КЛ). Контрольним тваринами вводили аналогічну дозу неспецифічних ТФ-поліпептидів, отриманих із лімфоцитів інтактних шурів, або еквівалентний за об'ємом забуферений фізіологічний розчин. На 5-ту добу всім мишам внутрішньовенно трансплантували гетерогенну популяцію клітин КЛ. На 16-ту добу після внутрішньовенного перещеплення КЛ підраховували кількість та об'єм метастазів у легенях тварин.

Встановлено, що у мишей на тлі попереднього введення карцинома-специфічного препарату ТФ-поліпептидів кількість легеневих метастазів та їх об'єм значно менші за аналогічні показники в групі після застосування неспецифічного препарату ТФ-поліпептидів та в контрольній групі (p<0,05). Виникнення одиночних метастазів КЛ в легенях тварин в умовах відтвореної імунної відповіді на її антигени є свідченням того, що серед гетерогенної популяції перещеплених пухлинних клітин лише їх мінорна субпопуляція уникла протипухлинної дії адаптивного імунітету. При цьому відтворений протективний імунітет призводить до елімінації пухлинних клітин із фенотипом, який відповідає специфічності ТФ-поліпептидів.

Розроблено спосіб імуноселекції пухлинних клітин із високим клоногенним потенціалом шляхом перенесення реципієнту пухлини імуореактивності на її антигени за допомогою карцинома-специфічних ТФ-поліпептидів, що дозволить відокремити клони пухлинних клітин, які отримали селективні переваги росту в організмі, для подальшого їх дослідження.

### 697. Физико-химические и биологические свойства механохимически гетерогенизированных микрочастиц клеток карциномы легкого Льюис

Н.Н. Храповская<sup>1</sup>, В.Э. Орел<sup>1</sup>, Ю.А. Гриневич<sup>1</sup>, О.В. Скачкова<sup>1</sup>, А.В. Романов<sup>1</sup>, А.П. Бурлака<sup>2</sup>, С.Н. Лукин<sup>2</sup>, Н.Н. Дзятковская<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный институт рака, Киев

<sup>2</sup>Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев

Широко исследуются подходы, направленные на модификацию опухолевых клеток, с целью усиления их иммуногенности. Известно, что на иммуногенность опухолевых антигенов существенно влияют гетерогенность их химического состава и структуры. Цель работы – изучить некоторые физико-химические и биологические особенности механохимически гетерогенизированных (МХГ) микрочастиц клеток карциномы легкого Льюис (ККЛЛ).

Опыты проводили с использованием ККЛЛ мышей линии C57BL/6. Лиофилизированные ККЛЛ подвергали МХГ в механореакторе ММВЕ-0,005 (Гефест, Россия) с интенсивностью подвода механической энергии 20Вт/г. Уровень свободных радикалов ККЛЛ изучали методом электронно-парамагнитной резонансной (ЭПР) спектроскопии с помощью спектрометра Ре1307(Россия). Электронную микроскопию проводили с помощью микроскопа Jeol JSM-6060 (Jeol, Япония). Исследовали цитологические и фенотипические особенности дендритных клеток (ДК), «нагруженных» МХГ ККЛЛ.

ККЛЛ, не подвергавшиеся МХГ, характеризовались существенными изменениями формы и размеров. Клетки, подвергшиеся МХГ, имели гетерогенную поверхность, асимметричность формы, в них визуализировались деформированные фрагменты в виде микрочастиц. Процентный весовой состав различных элементов в МХГ ККЛЛ не изменился, в них возросла гетерогенность пространственного распределения С, Na и Cl. МХГ ККЛЛ характеризовались размытым ЭПР-спектром. В МХГ ККЛЛ зарегистрировано повышение концен-

трации свободных радикалов (1017 спин/мг) по сравнению с нативными ККЛ (1015 спин/мг). ДК, «нагруженные» МХГ ККЛЛ, характеризовались более обширной цитоплазмой и наибольшим количеством радиальных клеточных отростков, уменьшением ядерно-цитоплазматического соотношения, повышением уровня экспрессии молекул костимуляции CD86 на мембране.

МХГ ККЛЛ характеризуются повышенной гетерогенностью поверхности, микроструктуры, асимметричностью формы, а также повышенной концентрацией свободных радикалов. «Нагрузка» ДК МХГ ККЛЛ вызывает повышение степени их зрелости.

### 698. Антиметастатический эффект специфической иммунотерапии на основе ДК в комбинации с низкими дозами циклофосфамида

*Н.Н. Храповская, О.В. Скачкова, В.В. Ситко, Н.Н. Свєргун, Н.В. Ионкина, А.И. Горбач, В.В. Никулина  
Национальный институт рака, Киев*

В настоящее время известно, что циклофосфамид (ЦФ) в низких дозах обладает иммуномодулирующими свойствами: влияет на функциональную активность и количество Т-регуляторных (Т-рег) клеток. Таким образом, ЦФ за счет истощения популяции Т-рег может потенцировать антиметастатический эффект специфической иммунотерапии.

В исследовании задействованы 100 мышей линии С57В1/6 с карциномой легкого Льюис (КЛ), перевитой в летальной дозе. ЦФ применяли в суммарной дозе 40 или 100 мг на курс в сочетании с иммунотерапией на основе ДК, нагруженных механомодифицированными лиофилизированными опухолевыми клетками (м/м ЛФОК) в концентрации 0,05 мг/мл. ЦФ вводили на 7-е сутки после перевивки КЛ 3 раза с интервалом в 3 суток. ДК вводили внутривенно трижды раз в 3 суток после окончания введения ЦФ. На 30-е сутки после перевивки опухоли проводили подсчет количества и объема метастазов в легких, определяли функциональную активность естественных киллерных клеток (ЕКК), проводили анализ продукции мРНК цитокинов (TGF- $\beta$ , VEGF-A, IL-10) в метастатических клетках с помощью РТ-ПЦР, оценивали формирование/усиление специфического иммунного ответа по накоплению ДНК в лимфоцитах.

Установлено, что наиболее эффективным является применение иммунотерапии на основе ДК в сочетании с предварительным введением ЦФ в суммарной дозе 40 мг/кг на курс. У животных этой группы количество и объем метастазов были наименьшими и составили  $(0,22 \pm 0,15)$  против  $(50,14 \pm 12,26)$  и  $(0,28 \pm 0,19)$  мм<sup>3</sup> против  $(99,21 \pm 25,79)$  мм<sup>3</sup> в контроле соответственно. В метастатических клетках в легких у животных этой группы уровень экспрессии мРНК TGF- $\beta$  был наименьшим и составил  $(20,30 \pm 10,30)$  усл. ед. против  $(88,93 \pm 21,54)$  усл. ед. в контроле. Установлено, что при применении такой схемы иммунотерапии отмечается значительное усиление цитотоксической активности ЕКК по отношению к сингенным клеткам-мишеням до  $(86,60 \pm 1,60)$  % против  $(74,40 \pm 2,23)$  % в контроле и формирование антигенспецифического иммунного ответа.

Получено экспериментальное обоснование целесообразности применения подходов, ориентированных на снижение активности Т-рег со свойствами супрессоров, в схемах специфической ДК-иммунотерапии у больных злокачественными новообразованиями.

### 699. Вплив кверцетину та тіотриазоліну на розвиток постхіміопроменевих пошкоджень легень у щурів різних генетичних ліній

*І.Ф. Хурані, О.Я. Какаркін*

*Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова*

Одним з ускладнень хіміопроменевої терапії є пневмофіброз. Значну роль у його розвитку відіграє пошкодження ендотелію, що веде до секреції прозапальних та профіброгенних медіаторів. Відомо, що реактивність ендотелію залежить від генетичних чинників. Не виключено, що постхіміопроменеві пошкодження легень також є генетично детермінованими. Мета роботи полягала у вивченні маркерів фіброгенезу, оксидантного та запального процесів у щурів різних генетичних ліній із постхіміопроменевими пошкодженнями легень та оцінці захисного ефекту кверцетину і тіотриазоліну.

Дослідження проведено на лінійних щурах Fisher, Wistar і спонтанно-гіпертензивних, яким на тлі опромінення, введення циклофосфаміду або поєднання опромінення з циклофосфамідом вводили кверцетин та тіотриазолін. В гомогенаті легень та сироватці крові визначали маркери фіброзу, оксидантного стресу та запалення.

Опромінення, введення циклофосфаміду, а особливо їх поєднання індукують у легнях щурів оксидантний стрес та запальну реакцію, виразність яких у різних генетичних ліній різна. Підвищення вмісту малонового діальдегіду, карбонільних груп білків, нітритів та нітратів в гомогенаті легень та сироватці крові були більш виразними у спонтанно-гіпертензивних щурів (55–65%), помірними (35–45%) — у щурів Fisher і найменшими (25–40%) — у Wistar. У всіх щурів розвивався пневмофіброз: зростала маса легень (14–18%), вміст у них загального оксипроліну, глікозаміногліканів, тексозамінів (40–56%). Найбільшими зміни були у спонтанно-гіпертензивних щурів. Кверцетин та тіотриазолін зменшували ендогенну інтоксикацію, прояви оксидантного стресу та розвиток пневмофіброзу (особливо у спонтанно-гіпертензивних щурів).

Профіброгенний ефект опромінення та циклофосфаміду, вираженість запалення та оксидантного стресу значною мірою детермінуються на генетичному рівні. Кверцетин та тіотриазолін мають високу антифіброзну дію й ефективно запобігають пошкодженню легень у тварин різних генетичних ліній.

### 700. Особливості експресії білків-регуляторів обміну заліза у чутливих та резистентних до протипухлинних препаратів клітинах раку молочної залози в системі *in vitro*

*В.Ф. Чехун<sup>1</sup>, Н.Ю. Лук'янова<sup>1</sup>, Н.О. Безденєжних<sup>1</sup>, А.П. Бурлака<sup>1</sup>, І.П. Погрібний<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ*

<sup>2</sup>*Національний центр токсикологічних досліджень, США*

Резистентність злоякісних клітин до протипухлинних препаратів залишається однією з головних проблем сучасної онкології. Відомо, що ефективність дії багатьох цитостатиків визначається особливостями каскаду метаболічних процесів, в тому числі станом обміну заліза в пухлинних клітинах. В той же час дані про порушення обміну заліза при формуванні фенотипу лікарської резистентності (ЛР) практично відсутні. Мета роботи — дослідити в системі *in vitro* активність та рівень експресії деяких білків-регуляторів обміну заліза у чутливих та резистентних до протипухлинних препаратів клітинах раку молочної залози (PM3) людини лінії MCF-7.

Об'єктом дослідження були чутливі (MCF-7/S) та резистентні до цисплатину (MCF-7/CP) і доксорубіцину (MCF-7/DOX) клітини PM3 людини. Активність церулоплазміну (Цер) та рівень трансферину (Тф) оцінювали за допомогою електронопарамагнітного резонансу. Експресію рецептора трансферину (рТф), Тф, феропортину (Фер) та гепсидину (Геп) досліджували за допомогою стандартного імуноцитохімічного методу.

Встановлено, що в клітинах MCF-7/CP активність Цер знизена, а в клітинах MCF-7/DOX, навпаки, підвищена порівняно з клітинами MCF-7/S. Підвищена експресія рТф та Тф відзначається в клітинах обох резистентних ліній. Найбільш високий рівень експресії рТф та Тф виявлено в клітинах MCF-7/CP, резистентних до цисплатину. Поряд із цим показано, що формування фенотипу лікарської стійкості як до цисплатину, так і до доксорубіцину супроводжується підвищенням рівня експресії Фер та Геп.

Встановлено, що формування фенотипу ЛР в клітинах PM3 людини супроводжується зміною експресії білків-регуляторів обміну заліза. Найбільш суттєві порушення обміну заліза відмічаються в клітинах, резистентних до цисплатину. Отримані дані свідчать про перспективність вивчення ролі білків-регуляторів обміну заліза для розкриття механізмів лікарської стійкості та розробки методів її подолання. Робота підтримана договором № 2.2.5.344 цільової комплексної міждисциплінарної програми



наукових досліджень НАН України «Фундаментальні основи молекулярних та клітинних біотехнологій» 2010–2014рр.

**701. Использование флуоресцентной микроскопии и микроспектроскопии для визуализации взаимодействия липосом с чувствительными и резистентными опухолевыми клетками**

*В.Ф. Чехун<sup>1</sup>, Н.Ю. Лукьянова<sup>1</sup>, Н.О. Безденежных<sup>1</sup>, И.Н. Тодор<sup>1</sup>, С.Л. Ефимова<sup>2</sup>, И.Ю. Курильченко<sup>2</sup>, Т.Н. Ткачева<sup>2</sup>, Ю.В. Малюкин<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев

<sup>2</sup>Институт цинтилляционных материалов, Харьков

Одним из перспективных способов преодоления лекарственной резистентности и повышения эффективности противоопухолевой терапии является использование липосомальных форм цитостатиков. В связи с этим изучение механизмов взаимодействия липосом с опухолевыми клетками и поиск методов их визуализации являются актуальной задачей. Цель — оценить возможность использования флуоресцентной микроскопии и микроспектроскопии для визуализации взаимодействия липосом с чувствительными и резистентными опухолевыми клетками в системе *in vitro*.

Исследования проведены на чувствительных (MCF-7/S) и резистентных к цисплатину (MCF-7/CP) и доксорубину (MCF-7/Dox) клетках рака молочной железы человека, которые инкубировались с липосомами, мечеными флуоресцентными зондами (DiO и DiI). Визуализация взаимодействия липосом с опухолевыми клетками проведена методами флуоресцентной микроскопии и микроспектроскопии в режиме реального времени. Качественный и количественный состав липидов в клетках исследовали микрометодом тонкослойной хроматографии.

Установлено, что наиболее активно с мечеными липосомами взаимодействуют клетки резистентных линий. Так, входение флуоресцентных зондов в клетки MCF-7/Dox отмечается уже через 2,5 ч, MCF-7/CP — через 5 ч, а в клетки MCF-7/S — **только через 9 ч, о чем свидетельствует изменение сигнала флуоресценции.** Показано, что взаимодействие с мечеными липосомами приводит к изменению качественного и количественного состава липидов, преимущественно резистентных клеток: значительному увеличению содержания холестерина и фосфатидилхолина.

С использованием флуоресцентной микроскопии и микроспектроскопии установлены существенные различия в визуализации взаимодействия меченых липосом с клетками чувствительных и резистентных линий. Результатом такого взаимодействия является изменение липидного состава преимущественно клеток резистентных линий.

**702. Липидный состав в опухоли и печени крыс после внутривенного введения наноферромагнетика в липосомальной форме с последующим воздействием постоянного магнитного поля**

*В.Ф. Чехун, И.Н. Тодор, Н.Ю. Лукьянова, И.К. Хаецкий*

*Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев*

Использование нанотехнологий в области медицины создают новые возможности для улучшения диагностики и лечения различных заболеваний, в частности онкологических. С этой точки зрения весьма перспективными для химиотерапии могут быть липосомальные формы противоопухолевых препаратов, содержащие ферромагнитные наночастицы. Поскольку липиды являются ключевым компонентом мембранного аппарата клетки, целью данного исследования было качественное и количественное определение содержания липидов в опухоли и печени после внутривенного введения крысам наноферромагнетика (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, 100нм) в липосомальной форме.

В исследованиях использовали крыс с перевитой подкожно карциносаркомой Walker-256. У части животных на опухоль

в течение 1 ч воздействовали постоянным магнитным полем (МП, 120–600мТл). Другой части животных в хвостовую вену однократно вводили наноферромагнетик в липосомальной форме (ФМ, 3мгFe/kg). Существовала группа крыс, которым в/в вводили ФМ и в течение 1 ч, **на опухоль воздействовали МП.** Контрольным животным в/в вводили физраствор. Через 24 ч после того или иного воздействия, используя микрометод тонкослойной хроматографии, определяли в ткани опухоли и печени качественный и количественный состав общих липидов и фосфолипидов.

Установлено, что через сутки после в/в введения ФМ в ткани печени крыс не отмечены изменения в составе общих липидов и особенно фосфолипидов. В то же время в опухолевой ткани фиксируется уменьшение содержания холестерина, диглицеридов и сфингомиелина. Эти изменения были более выраженными, если после в/в введения ФМ на опухоль воздействовали постоянным МП.

Снижение содержания холестерина и сфингомиелина в опухоли после в/в введения ФМ с последующим воздействием МП указывает на повышение текучести и проницаемости мембран опухолевых клеток. Отсутствие повреждающего действия липосомальных наночастиц ФМ на липиды гепатоцитов свидетельствует об их низкой токсичности и целесообразности использования в качестве вектора для доставки противоопухолевых агентов.

**703. Ад'ювантна хіміоімунотерапія як ефективний спосіб профілактики метастазування експериментальної пухлини**

*К.С. Шуміліна, Г.Д. Льон, С.М. Кукушкіна, В.В. Швед,*

*Ю.Я. Гриневич, Ф.В. Фільчаков, В.О. Мельник*

*Національний інститут раку, Київ*

Для попередження метастазування може бути використаний підхід, оснований на одночасному впливі на пухлинні клітини хіміотерапевтичних агентів і протипухлинні імунні реакції, ініційованих *de novo* та/або посилені *in vivo* трансферфакторними поліпептидами (ТФ-поліпептидами), отриманими з лімфоцитів, сенсibiliзованих до антигенів конкретної пухлини. Мета роботи — вивчити антиметастатичну дію комбінації ксеногенних карцинома-специфічних ТФ-поліпептидів і циклофосфаміду в ад'ювантній терапії мишей C57BL/6 з карциномою легені Льюїса (КЛ).

Карцинома-специфічні ТФ-поліпептиди ксеногенного походження одержували з лімфоцитів селезінки щурів на 14-ту добу після внутрішньоочеревинної імунізації клітинами КЛ. Мишам C57BL/6 дослідних груп внутрішньоочеревинно вводили ксеногенний препарат ТФ-поліпептидів (200 пг/мишу на 2- та 9-ту добу після хірургічного видалення підшкірної КЛ) і/або циклофосфаміду у цитостатичній дозі (0,6 мг на мишу) на 4- та 11-ту добу після операції. Антиметастатичну дію ад'ювантної хіміоімунотерапії вивчали на 14-ту добу після видалення первинної пухлини (29-та доба після підшкірного перещеплення КЛ у стопу).

Встановлено, що резекція первинної пухлини не впливає на частоту метастазування, однак значно (p<0,05) зменшує кількість та об'єм метастазів КЛ у легенях мишей C57BL/6. Ад'ювантна хіміотерапія циклофосфамідом не покращує результати хірургічного лікування. Навпаки, застосування карцинома-специфічних ТФ-поліпептидів ксеногенного походження сприяє зменшенню (p<0,05) кількості та об'єму метастазів у легенях мишей порівняно з результатом тільки хірургічного лікування. При комбінованому застосуванні в ад'ювантному режимі карцинома-специфічних ТФ-поліпептидів і циклофосфаміду в жодному випадку не було виявлено метастазів КЛ у легенях мишей C57BL/6. Виражений антиметастатичний ефект такої комбінованої терапії супроводжувався відновленням маси й клітинності селезінки, кількості великих гранулярних лімфоцитів у периферичній крові, підвищенням функціональної активності цитотоксичних клітин *in vitro*.

Ад'ювантна хіміоімунотерапія з використанням пікограмних концентрацій пухлинспецифічних ТФ-поліпептидів в поєднанні з цитостатичною дозою циклофосфаміду запобігає виникненню метастазів КЛ у легенях мишей C57BL/6, що свідчить про перспективність розробки на цій основі нових методів лікування хворих онкологічного профілю.