

REFERENCES

1. Berezov T.T. Molecular and biochemical basis of cancer enzymotherapy. *Biomeditsinskaja himija*. 2005; 51: 235—47 (in Russian).
2. Lukasheva E.V., Berezov T.T. L-lysine- α -oxidase: physico-chemical and biological properties. *Biohimija*. 2002; 67 (10): 1394—402 (in Russian).
3. Pokrovskij V.S., Lesnaja N.A., Treshhalina E.M., Lukasheva E.V., Berezov T.T. Perspectives of new anticancer enzyme drugs development. *Voprosy onkologii*. 2011; 57 (2): 155—64 (in Russian).
4. Kusakabe H., Kodama K., Kuninaka A., Yoshino H., Misono H., Soda K. A new antitumor enzyme, L-lysine α -oxidase from *Trichoderma viride*. Purification and enzymological properties. *J. Biol. Chem.* 1980; 255 (3): 976—81.
5. Lukasheva E.V., Lukashev A.N., Pokrovskij V.S., Treshhalina E.M., Shumilina E.Ju., Arinbasarova A.Ju. et al. Studying of pharmacokinetic properties of L-lysine- α -oxidase. *Voprosy medicinskoj, biologiceskoj i farmacevticeskoj himii*. 2013; 1: 57—62 (in Russian).
6. Mironov A.N., ed. Manual for preclinical drug testing. Part one. Moscow: Meditsina. 2005 (in Russian).
7. Kusakabe H., Kodama K., Machida H., Midorikawa Y., Kuninaka A., Misono H. et al. Occurrence of a novel enzyme, L-lysine oxidase with antitumor activity in culture extract of *Trichoderma viride*. *Agricult. Biol. Chem.* 1979; 43 (2): 337—43.

Поступила 04.02.13

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 616.831-006.484.04-073.537-085.831

И. Ю. Кубасова¹, З. С. Смирнова¹, К. В. Ермакова¹, Л. М. Борисова¹, М. П. Киселева¹, Н. А. Оборотова¹,
Г. А. Меерович², В. М. Деркачев³

ФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА И ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ГЛИОМ У КРЫС

¹ФГБУ "Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина" РАМН, 115478, г. Москва; ²Институт общей физики им. А. М. Прохорова" РАН, 141073, г. Москва; ³ФГУП "Государственный научный центр" Научно-исследовательский институт органических полупродуктов и красителей", 123995, г. Москва

Изучена возможность применения флюоресцентной диагностики (ФД) и фотодинамической терапии (ФДТ) с использованием отечественных фотосенсибилизаторов и аппаратуры при опухолях головного мозга. При изучении динамики уровня и селективности накопления фотосенса и тиосенса в ткани глиомы С6 спектрально-флюоресцентным методом показано, что препараты селективно накапливаются в ткани опухоли. По патоморфологическому критерию показана высокая эффективность ФДТ с фотосенсом и тиосенсом в монотерапии, а также при комбинированном лечении. Установлено повышение терапевтической эффективности комбинированного лечения глиомы С6 с использованием ФД и интраоперационной ФДТ с аласенсом.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, флюоресцентная диагностика, глиома С6, фотосенс, тиосенс, аласенс.

FLUORESCENCE DIAGNOSIS AND PHOTODYNAMIC THERAPY OF MALIGNANT GLIOMAS IN RATS.

I.Yu. Kubasova¹, Z.S. Smirnova¹, K.V. Ermakova¹, L.M. Borisova¹, M.P. Kiseleva¹, N.A. Oborotova¹, G.A. Meerovich², V.M. Derkachev³

¹N.N.Blokhin Russian Cancer Research Center of the Russian Academy of Medical Sciences, 115478, Moscow, Russian Federation; ²A.M. Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences, 141073, Moscow, Russian Federation; ³FSUE «SSC» NIOPIK, 123995, Moscow, Russian Federation

The possibilities of fluorescence diagnosis (FD) and photodynamic therapy (PDT) with domestic photosensitizers and domestic equipment in brain tumors have been studied. Investigation of the level and selectivity of accumulation dynamics of Photosens and Tiosens in C6 glioma tissue by spectral fluorescence method has showed the selective accumulation of both agents in tumor tissue. High efficiency of PDT with Photosens and Tiosens both as monotherapy and as combined treatment has been shown on the base of pathomorphological criteria. Increase of therapeutic efficacy of combined treatment of C6 glioma using FD and intraoperative PDT with Alasens has been established.

Key words: photodynamic therapy, fluorescence diagnosis, glioma C6, Photosens, Tiosens, Alasens.

Лечение злокачественных глиом головного мозга составляет одну из наиболее сложных задач в нейроонкологии. На современном этапе наиболее эффективным является комбинированный подход к лечению злокачественных глиом, включающий хирургическое удаление опухоли, лучевую терапию, химиотерапию, а также ряд

новых методов лечения: иммунотерапию, антиангиогенную, фотодинамическую терапию (ФДТ) [1].

Основными факторами, влияющими на прогноз больных со злокачественными глиомами, являются: гистологическая степень злокачественности опухоли, возраст пациентов, тяжесть состояния больных при поступлении в клинику и после операции, а также радикальность хирургического вмешательства [2]. Главной целью оперативного вмешательства является удаление максимально возможного объема опухоли и постановка точного гистологического диагноза.

Для корреспонденции: Смирнова Зоя Сергеевна — д-р мед. наук, проф., зав. лаб. экспериментальной химиотерапии НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей РОНЦ, 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24; e-mail: smirnova_z@mail.ru.

Таблица 1

Эффективность фотодинамической терапии глиомы С6 у крыс

Группа	Плотность мощности, мВт/см ²	Время облучения, мин	СПЖ, дни	УПЖ, %	Медиана выживаемости, дни
Контроль	—	—	20,4±3,1	—	—
Тиосенс	100	20	29,0±2,9	42*	29
	200	20	25,1±3,4	23	25
Фотосенс	100	20	23,3±2,5	14	23
	200	20	22,4±4,4	10	23

Примечание. * — $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе. Здесь и в табл. 2, 3: СПЖ — средняя продолжительность жизни.

Лучевая терапия является одним из методов послеоперационной терапии и в ряде случаев приводит к увеличению продолжительности жизни, в особенности пациентов моложе 65 лет. Лучевую терапию рекомендуют проводить больным с анапластическими астроцитомами и глиобластомами. Общепринятая фракционированная лучевая терапия выполняется с использованием высокой энергии фотонных лучей, генерированных магнитными ускорителями, или же используется телегамма-терапия.

Химиотерапевтическое лечение в сочетании с предварительным удалением опухоли и послеоперационной лучевой терапией позволяет повысить одно- и двухлетнюю выживаемость больных со злокачественными глиомами, особенно больных с анапластическими астроцитомами [3]. В то же время применение химиотерапии для лечения опухолей центральной нервной системы (ЦНС) связано с большими трудностями, обусловленными наличием гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и низкой чувствительностью глиом к большинству химиотерапевтических агентов [4].

Наиболее эффективными препаратами для лечения опухолей мозга считаются производные нитрозомочевины, способные проникать через ГЭБ [5]. Применяют также метилирующие агенты (прокарбазин и декарбазин), платиновые соединения (карбоплатин и цисплатин), алкалоиды барвинка (винкристин и винбластин). Последние 5—7 лет в лечении глиом активно используется темодал. По данным литературы, средняя продолжительность жизни больных с глиобластомами после хирургического удаления, послеоперационной лучевой и химиотерапией составляет 7—12 мес [6].

ФДТ является относительно новым методом в лечении злокачественных опухолей, основанным на способности фотосенсибилизаторов (ФС) селективно накапливаться в ткани опухоли и при локальном воздействии лазерного облучения определенной длины волны, совпадающего с пиком поглощения препарата, генерировать синглетный кислород и другие активные радикалы, оказывающие токсический эффект на опухолевые клетки. Высокая избирательность поражения опухоли при ФДТ позволяет минимально травмировать окружающие здоровые ткани, что обуславливает высокий терапевтический результат лечения. Метод ФДТ выгодно отличается от традиционной терапии отсутствием тяжелых местных и системных осложнений [7]. Кроме прямого цитотоксического воздействия, при ФДТ важную роль в деструкции новообразования играют также нарушение кровоснабжения опухоли за счет повреждения эндотелия кровеносных сосудов опухолевой ткани; цитокиновые реакции, стимуляция продукции фактора некроза опухоли, активация макрофагов, лейкоцитов и лимфоцитов. Кроме того, важным при проведении ФДТ является достаточная оксигенация тканей, необходимая для образования синглетного кислорода. Эффективность фотодинамического повреждения биологической ткани определяется, главным образом, уровнем накопления фотосенсибилизатора, его локализацией в клетке, фотохимической активностью (квантовым выходом генерации синглетного кислорода или свободных радикалов).

Еще одним направлением современной нейроонкологии является флюоресцентная диагностика (ФД), заключающаяся в определении границ опухоли с помощью флюоресценции фотосенсибилизаторов. Интерес к флюоресцентному методу диагностики повысился в последние 10 лет в связи с появлением нового соединения для ФД и ФДТ — 5-аминолевулиновой кислоты (5-АЛК), являющейся предшественником фотоактивно-

го протопорфирина IX (ПП-9). Чувствительность ФД с 5-АЛК при различной локализации опухолей составляет более 90%, а селективность накопления выше, чем у многих других ФС.

В нашей работе мы изучали возможность применения при комбинированном лечении опухолей головного мозга ФДТ с двумя новыми отечественными фотосенсибилизаторами, отвечающими всем требованиям, предъявляемым оптимальному фотосенсибилизатору, — фотосенсом и тиосенсом, а также аласенсом, являющимся структурным аналогом 5-АЛК.

Материал и методы

Работа выполнена на половозрелых крысах породы Wistar массой 200—220 г. В работе использовали глиому С6, полученную у крыс породы Wistar путем повторного введения нитрозометилмочевины. По гистологическому строению глиома классифицирована как анапластическая астроцитома, которая имеет сходство с глиомой человека. Глиому С6 перевивали интракраниально по $400 \cdot 10^3$ опухолевых клеток.

Фотосенс, который представляет собой смесь натриевых солей сульфированного фталоцианина алюминия (от ди- до тетразамещенного), синтезированный во ФГУП ГНЦ НИОПИК, обладает интенсивной полосой поглощения в красной области спектра с максимумом в водном растворе в области 678 ± 2 нм. Фотосенс использовали в виде 0,2% раствора для инъекций 50 мл и вводили внутривенно однократно в дозе 2 мг/кг через 6 дней после перевивки опухоли и за 24 ч до проведения ФДТ.

Тиосенс, представляющий собой тетра-3-фенилтиофталоцианин гидроксиалюминия, не растворимый в воде, синтезирован во ФГУП ГНЦ НИОПИК. Липосомальную дисперсию тиосенса, разработанную в лаборатории лекарственных форм ФГБУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, вводили внутривенно в дозе 3 мг/кг на 6-й день после перевивки опухоли за 24 ч до проведения ФДТ. Электронный спектр поглощения раствора вещества содержит максимумы поглощения 717 ± 4 и 648 ± 4 нм.

Препарат Аласенс, являющийся структурным аналогом 5-АЛК, разработанный во ФГУП ГНЦ НИОПИК и имеющий максимум поглощения в спектральном диапазоне 635 нм, вводили внутривенно в дозе 100 мг/кг за 3 ч до оперативного вмешательства.

Возбуждение флюоресценции тиосенса осуществляли лазером длиной волны 720 нм, а фотосенса — 632 нм. Лазерное облучение проводили в дозах 120 и 240 Дж/см².

Удаление опухоли проводили после краниотомии 4×5 мм в области теменной кости. Опухоль визуализировали либо при обычном освещении, либо после введения

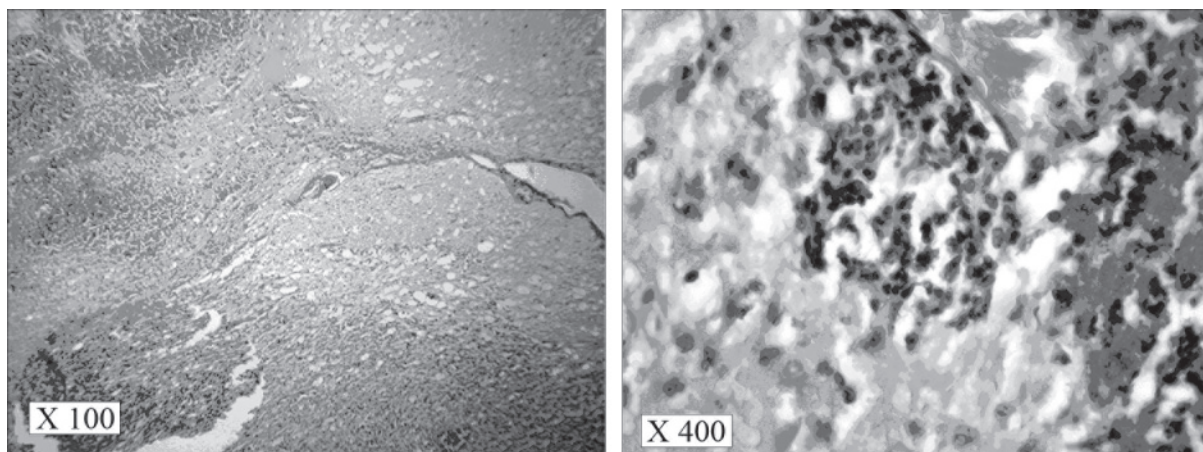


Рис. 1. Патоморфологическая картина глиомы С6 через 24 ч после ФДТ с фотосенсом. Окраска гематоксилином и эозином.

5-АЛК с использованием специальных светодиодных источников длиной волны 404 ± 2 и 440 ± 2 нм.

Контроль за объемом резецируемой опухоли проводили спектрально-флуоресцентным методом по интенсивности флуоресценции фотосенса и тиосенса в ложе опухоли с использованием спектроанализатора ЛЭСА-Биоспек.

При патоморфологическом исследовании гистологические препараты готовили по стандартной методике. В качестве красителей использовали гематоксилин и эозин.

Критериями противоопухолевого эффекта служило увеличение продолжительности жизни (УПЖ) опытных крыс по сравнению с контрольными животными и патоморфологическое исследование. Кривые выживаемости Каплана—Мейера оценивали с помощью лог-рангового критерия.

Результаты и обсуждение

На первом этапе нашего исследования была изучена эффективность отечественных фотосенсибилизаторов фотосенса и тиосенса при ФДТ глиомы С6 в монотерапии.

Облучение проводили поверхностно через твердую мозговую оболочку. Использовались различные режимы облучения: 100 мВт/см^2 в течение 20 мин (120 Дж/см^2) или 200 мВт/см^2 в течение 20 мин (240 Дж/см^2).

Из представленных в табл. 1 данных следует, что тиосенс более эффективен, чем фотосенс при ФДТ глиомы С6 в монотерапии (максимальное УПЖ составляет 42 и 14% соответственно).

Это в первую очередь связано с тем, что фотосенс вызывает более выраженный отек головного мозга. Так, после облучения, несмотря на введение дексаметазона, от отека мозга в первые сутки погибали 20—30% крыс. В связи с этим не удалось получить статистически значимых различий выживаемости крыс после ФДТ с фотосенсом.

Таблица 2

Эффективность ФДТ с использованием тиосенса и фотосенса на глиоме С6 после декомпрессионной краниотомии

Группа	Плотность мощности, мВт/см^2	Время облучения, мин	СПЖ, дни	УПЖ, %	Медиана выживаемости, дни
Контрольная	—	—	$20,4 \pm 3,1$	—	—
Тиосенс	100	20	$31,5 \pm 5,0$	54*	32
Фотосенс	100	20	$24,6 \pm 3,3$	20	25

При патоморфологическом исследовании опухолевой ткани после ФДТ с фотосенсом и тиосенсом выявлен некроз и апоптоз, разрушение сосудов с кровоизлияниями и тромбоз сосудов в результате деструктивного васкулита. В окружающей ткани отмечался некроз, отек, полиморфно-ядерно-лейкоцитарная инфильтрация, а также пролиферация глиальных элементов и эндотелиоцитов, острая воспалительная реакция и репаративные изменения в нервной ткани (рис. 1, 2).

С целью уменьшения гибели крыс от отека головного мозга на следующем этапе для снижения внутричерепного давления (ВЧД) выполняли декомпрессионную краниотомию размером 4×5 мм.

Представленные в табл. 2 данные показывают, что при ФДТ с тиосенсом в дозе 3 мг/кг глиомы С6 после краниотомии при плотности мощности лазерного излучения 100 мВт/см^2 УПЖ составляет 54%, а при ФДТ с фотосенсом — 20%, медиана выживаемости — 32 и 25 сут соответственно.

Учитывая данные литературы, свидетельствующие о значительной корреляции между объемом резецируемой глиомы и продолжительностью жизни пациентов, мы на 7-й день опыта удаляли максимально возможный объем ткани глиомы С6. Контроль за объемом резецируемой глиомы проводили спектрально-флуоресцентным методом по интенсивности флуоресценции фотосенса

Таблица 3

Эффективность ФДТ с использованием фотосенса, тиосенса, аласенса после удаления глиомы С6 у крыс

Группа	СПЖ, дни	УПЖ, %	Медиана выживаемости, дни
Контрольная группа	$20,4 \pm 3,1$	—	—
Хирургическое удаление опухоли	$24,7 \pm 3,7$	21	25
Хирургическое удаление опухоли под контролем флуоресценции ПП-9	$27,1 \pm 3,6$	33	27
Интраоперационная ФДТ с фотосенсом	$24,9 \pm 4,1$	22	25
Интраоперационная ФДТ с тиосенсом	$34,3 \pm 4,7$	68*	34
Интраоперационная ФДТ с аласенсом	$29,8 \pm 4,2$	46*	30

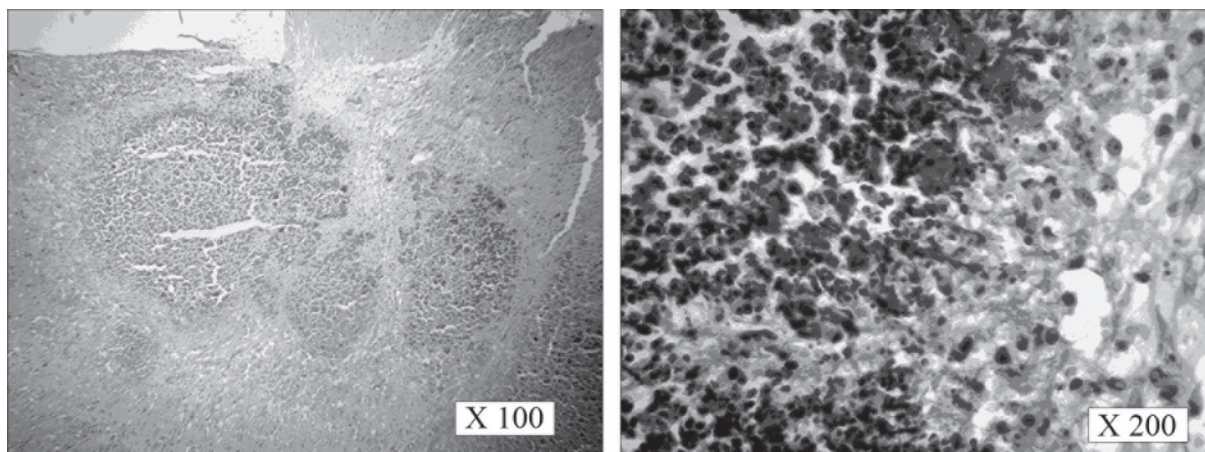


Рис. 2. Патоморфологическая картина глиомы С6 через 24 ч после ФДТ с тиосенсом. Окраска гематоксилином и эозином.

и тиосенса в ложе опухоли, которые вводили за 24 ч до операции. Для сравнения интенсивность флюоресценции измеряли в коже уха и лапы (области, где отсутствует шерсть).

Флюоресцентные исследования показали, что без хирургического вмешательства и при неполном удалении опухоли наблюдается интенсивная флюоресценция. Однако и при радикальных операциях наблюдается незначительная интенсивность флюоресценции в ложе опухоли, а при гистологическом исследовании удается обнаружить отдельные небольшие фокусы опухолевых клеток. Так, было показано, что хирургическое удаление ткани глиомы С6 радикально выполнено у 7 (43,8%) крыс из 16.

В табл. 3 представлены данные по выживаемости крыс после хирургического удаления опухоли при обычном освещении, а также с использованием фиолетового света под контролем флюоресценции аласенса, который вводили в дозе 100 мг/кг за 3 ч до проведения операции.

Из представленных в табл. 3 данных видно, что удаление глиомы С6 под контролем флюоресценции после введения аласенса приводит к увеличению продолжительности жизни оперированных крыс с 21% (удаление опухоли при обычном освещении) до 33%.

Интраоперационная ФДТ с фотосенсом не превышает эффективности резекции при обычном освещении, что, вероятно, связано с выраженным повышением ВЧД и гибели крыс от отека мозга. Тем не менее, учитывая результаты патоморфологического исследования, можно говорить об эффективности этого фотосенсибилизатора.

Комбинированное лечение глиомы С6 с использованием интраоперационной ФДТ с тиосенсом привело к статистически значимому увеличению выживаемости подопытных крыс по сравнению с контрольными, УПЖ составляет 68%, а медиана выживаемости — 34 дня.

Интраоперационная ФДТ с аласенсом после резекции глиомы С6 вызывает 46% = УПЖ, медиана выживаемости составляет 30 дней.

В нашей работе мы изучали эффективность применения при комбинированном лечении опухолей головного мозга двух новых отечественных фотосенсибилизаторов — фотосенса и тиосенса, а также аласенса, являющегося структурным аналогом 5-АЛК.

Ранее с помощью спектрально-флюоресцентного метода нами было показано, что эти фотосенсибилизаторы селективно накапливаются в опухолевой ткани, а индекс селективности достигает 12—13. Кроме того, был установлен оптимальный срок введения препаратов после

перевивки опухоли (6-й день опыта за 24 ч до проведения ФДТ), а также наиболее эффективные дозы фотосенсибилизаторов и режимы лазерного облучения.

Показано, что ФДТ с фотосенсом в монотерапии при лазерном облучении через краниотомическое отверстие приводит к значительной гибели животных от отека мозга. Послеоперационный отек мозга описывается во многих экспериментальных и клинических исследованиях. Одним из возможных факторов, влияющих на развитие отека мозга после ФДТ, является гипертермия (Laws E., 1981).

В связи с вышесказанным эффективность ФДТ в монотерапии оценивали по патоморфологическому критерию. При данном исследовании после ФДТ выявлен некроз и апоптоз, разрушение сосудов с кровоизлияниями и тромбоз сосудов в результате деструктивного васкулита. Такую же патоморфологическую картину описывает L. Lilje и соавт [2], которые изучали *in vivo* влияние ФДТ с использованием пяти различных фотосенсибилизаторов на патоморфоз карциномы VX2 кроликов.

Для снижения ВЧД после ФДТ была использована декомпрессионная краниотомия, что позволило повысить эффективность ФДТ с тиосенсом до 54% УПЖ, а с фотосенсом до 20% УПЖ. Таким образом, статистически значимые различия выживаемости получены для крыс после ФДТ только с использованием тиосенса.

На следующем этапе была изучена эффективность хирургического удаления глиомы С6 при обычном освещении, а также под контролем флюоресценции ПП-9 после введения аласенса. Получено увеличение продолжительности жизни опытных животных с 21 до 33%. Радикальность удаления опухоли подтверждалась спектрально-флюоресцентным методом. Кроме того, установлено, что дополнительная интраоперационная ФДТ значительно повышает эффективность хирургического лечения. Максимального значения УПЖ (68%) было достигнуто при комбинированном лечении глиомы С6 с использованием в качестве фотосенсибилизатора тиосенса. Незначительное увеличение продолжительности жизни крыс после интраоперационной ФДТ с фотосенсом связано с развитием основного побочного эффекта — отека мозга. С нарастающим ВЧД при использовании фотосенса не удалось справиться даже после декомпрессионной краниотомии. Однако у человека можно провести более обширную декомпрессионную краниотомию, чем у крысы, поэтому, учитывая высокую эффективность ФДТ с фотосенсом в отношении глиом, выявленную при патоморфологическом исследовании,

этот фотосенсибилизатор был рекомендован для клинических испытаний.

Заключение

В результате экспериментальных исследований нами показана высокая эффективность комбинированного лечения глиомы С6 крыс с использованием интраоперационной ФДТ с отечественными фотосенсибилизаторами. Подготовлен протокол клинических испытаний ФДТ с фотосенсом при опухолях головного мозга. В дальнейшем планируется продолжить углубленное изучение интраоперационной ФДТ на других моделях опухолей головного мозга с целью передачи тиосенса на клинические испытания.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Stylli S. S., Kaye A. H., Macgregor L. et al. Photodynamic therapy of high grade glioma — long term survival. J. Clin. Neurosci. 2005; 12 (4): 389—98.
2. Zhang X., Jiang F., Kalkanis S. N. et al. Combination of surgical resection and photodynamic therapy of 9L gliosarcoma in the nude rat. Photochem Photobiol. 2006; 82 (6): 1704—11.
3. Muller P. J., Wilson B. C. Photodynamic therapy of brain tumors — a work in progress. Lasers Surg. Med. 2006; 38 (5): 384—9.
4. Fenstermaker R. A., Ciesielski M. J. Immunotherapeutic strategies for malignant glioma. Cancer Control. 2004; 11 (3): 181—91.
5. Yang V. X., Muller P. J., Herman P., Wilson B. C. A multispectral fluorescence imaging system: design and initial clinical tests in intra-operative Photofrin-photodynamic therapy of brain tumors. Lasers Surg. Med. 2003; 32 (3): 224—32.
6. Stummer W., Pichlmeier U., Meinel T. et al. Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial. Lancet Oncol. 2006; 7: 392—401.
7. Lilge L., Portnoy M., Wilson B. C. Apoptosis induced in vivo by photodynamic therapy in normal brain and intracranial tumour tissue. Br. J. Cancer. 2000; 83 (8): 1110—17.

Поступила 18.10.12

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 615.277.03:616-006.04].015.44

Е.Н. Карева¹, И.С. Левина², Л.Е. Куликова², О.С. Горенкова³, А.Е. Маняхина⁴, Н.А. Коцюбинская¹, Д.А. Тихонов¹

ВЛИЯНИЕ ПРЕГНА-D'-ПЕНТАРАНОВ НА КУЛЬТУРУ КЛЕТОК HELA И МОНОНУКЛЕАРНУЮ ФРАКЦИЮ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

¹ГБОУ ВПО "Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова" Минздрава России, 117997, г. Москва; ²Учреждение РАН "Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского" РАН, 119991, г. Москва; ³Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии, 101000, г. Москва; ⁴ООО Лаборатория "Литех", 107023, г. Москва

Цель исследования. Изучение связывания прегна-D'-пентаранов с рецепторами прогестерона в моноклеарной фракции клеток периферической крови (МНФК) и культуре клеток HeLa, оценка влияния соединений на выживаемость клеток этих культур и уровень продукции ФНО-альфа в МНФК.

Материал и методы. Кровь забирали у 32 пациенток с миомой матки (средний возраст $36,8 \pm 0,78$ года), МНФК периферической крови выделяли методом Воуит. Для оценки связывающей активности испытуемых соединений применялся метод радиолигандного анализа. Стероиды (50 нМ) инкубировали с МНФК в течение 72 ч и в супернатанте определяли количество цитокинов с помощью ИФА-наборов ("Вектор-Бест") по инструкции. Влияние пентаранов на жизнеспособность клеток оценивалось с помощью МТТ-теста. Статистическую обработку проводили с использованием программы обеспечения Statsoft Statistica и MS Excel.

Результаты. Все изученные прегна-D'-пентараны проявляют достаточно высокое сродство к рецепторам прогестерона клеток HeLa и МНФК. Препараты 19(E)-19-метоксиимино-3,20-диоксо-16 α ,17 α -циклогексанопрегн-4-ен (III-873) и 16 α ,17 α -циклогексано-5 α H-прегнан-3,20-дион (IVк-100) не влияли на жизнеспособность МНФК и эффективно подавляли рост клеток HeLa. Кроме того, эти соединения стимулировали продукцию иммунокомпетентными клетками цитокина ФНО-альфа.

Заключение. Из 6 представителей прегна-D'-пентаранов мы выявили два наиболее перспективных соединения — 19(E)-19-метоксиимино-3,20-диоксо-16 α ,17 α -циклогексанопрегн-4-ен (III-873) и 16 α ,17 α -циклогексано-5 α H-прегнан-3,20-дион (IVк-100). Указанные соединения при максимальном подавлении жизнеспособности клеток HeLa не оказывают цитостатического действия на иммунокомпетентные клетки и стимулируют продукцию последними цитотоксического цитокина — ФНО-альфа.

Ключевые слова: прегна-D'-пентараны, специфическое связывание, моноклеарная фракция клеток периферической крови (МНФК), клетки HeLa, ФНО-альфа, жизнеспособность клеток.

INFLUENCE OF PREGNA-D'-PENTARANES ON CELL CULTURES HELA AND MONONUCLEAR CELL FRACTION OF PERIPHERAL BLOOD

E.N. Kareva¹, I.S. Levina², L.E. Kulikova², O.S. Gorenkova³, A.E. Manyakhina⁴, N.A. Kotsyubinskaya¹, D.A. Tikhonov¹

¹N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, 117997, Moscow, Russian Federation; ²N. D. Zelinsky institute of organic chemistry, 119991, Moscow, Russian Federation; ³Moscow Regional Scientific Institute for Obstetrics and Gynecology, 101000, Moscow, Russian Federation; ⁴Research and Production Company "Lytech", 107023, Moscow, Russian Federation