

НАНОТЕХНОЛОГИИ В ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ

С.Ю. Васильченко, А.В. Рябова, Т.А. Савельева,
В.Б. Лощенко

Применение нанофотосенсибилизаторов на основе фталоцианина алюминия для модуляции ангиогенеза

ЦЕНИ институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН,
Москва

Введение. Известно, что фотодинамическое воздействие в зависимости от режима проведения может как стимулировать, так и ингибировать ангиогенез в биотканях.

Материалы и методы. Возможность модуляции ангиогенеза при фотодинамическом воздействии с применением наночастиц фталоцианина алюминия исследовалась в эксперименте на лабораторных животных (мышах) при проведении им аутоотрансплантации полнослойных кожных лоскутов. Данная модель была выбрана в силу того, что прорастание трансплантата новообразованными сосудами является критическим фактором, гарантирующим успешность операции, и может быть легко оценено неинвазивными методами спектроскопии диффузного отражения *in vivo*.

После операции животным апплицировался коллоидный раствор наночастиц фталоцианина алюминия (диаметр частиц 50 – 100 нм) и через 2–4 ч осуществлялось облучение. Активность ангиогенеза оценивалась по результатам измерений степени оксигенации и концентрации гемоглобина в микроциркуляторном русле аутоотрансплантатов.

Результаты. Оценка степени оксигенации и концентрации гемоглобина в микроциркуляторном русле трансплантатов показала возможность модуляции активности ангиогенеза с помощью фотодинамической терапии с применением наночастиц фталоцианина алюминия. При этом выявлена выраженная корреляция между степенью неоангиогенеза и режимами аппликации препарата и светового воздействия.

Работа проводилась в рамках Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные науки — медицине».

Л.Ю. Владимирова, Н.А. Абрамова

Неоадьювантная аутоплазмамагнитотерапия в лечении местнораспространенного рака молочной железы

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, Ростов-на-Дону

Введение. На основании экспериментальных данных о повышении связывающей активности белков плазмы к химиопрепаратам в результате модифицирующего воздействия переменного магнитного поля (ПемП) при предварительном омагничивании аутоплазмы был разработан метод аутоплазмамагнитохимиотерапии (АПМХТ).

Задачи исследования. Оценка эффективности данного метода как неоадьювантного этапа лечения местнораспространенного рака молочной железы.

Материалы и методы. В основную группу вошли 15 первичных больных с местнораспространенным процессом (стадии ПБ – ПС, T₂₋₄N₁₋₃M₀) в возрасте от 29 до 65 лет (средний возраст — 42,1 года). Кон-

трольная группа из 15 пациенток по всем параметрам была сопоставима с основной. Аутоплазму больных основной группы подвергали воздействию переменного магнитного поля, смешивали с цитостатиками в разовых дозах, инкубировали при температуре 37 °C не менее 30 мин и вводили внутривенно капельно. Курсовые дозы химиопрепаратов составили: метотрексат 30 мг/м², доксорубин 80 мг/м², 5-фторурацил 2000 мг/м², циклофосфан 800 мг/м². Больные контрольной группы подвергались АПМХТ без предварительного омагничивания аутоплазмы.

Результаты. Эффект лечения оценивали после 2 курсов неоадьювантной химиотерапии. Объективный ответ (полная и частичная регресс опухоли и метастатических лимфоузлов) в обеих группах отмечался с высокой частотой (80 % (15) и 88,9 % (16) соответственно), но был более выражен в основной группе за счет достоверно более частой регистрации полной регрессии опухоли и метастатических лимфоузлов (6,7 % (1) и 26,6 % (4) соответственно, $p < 0,05$). Случаев прогрессирования заболевания в процессе лечения в основной группе А в отличие от контрольной (6,7 %) не было. Все пациентки, вошедшие в исследование, были прооперированы. Достоверно чаще отмечены III – IV степень лечебного патоморфоза (33,3 % (5) и 53,3 % (8) соответственно, $p < 0,05$).

Выводы. Таким образом, неоадьювантная химиотерапия местнораспространенного рака молочной железы на предварительно омагниченной аутоплазме позволила добиться более выраженного уменьшения размеров опухоли и метастатических лимфоузлов, перевода больных с местнораспространенным процессом из неоперабельного в операбельное состояние и увеличения степени лечебного патоморфоза.

К.В. Ермакова¹, З.С. Смирнова¹, Л.М. Борисова¹,
М.П. Киселева¹, Н.А. Оборотова¹, И.Г. Меерович¹,
Г.А. Меерович², Е.А. Лукьянец³

Эффективность фотодинамической терапии с липосомальной лекарственной формой отечественного фотосенсибилизатора тиосенс на глиоме С6 крыс

¹ГУ РОИЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

²ЦЕНИ институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН,
Москва

³ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва

Введение. Злокачественные глиомы — наиболее распространенные первичные опухоли головного мозга и характеризуются способностью к быстрой пролиферации, ангиогенезу и инвазивному росту. Медиана выживаемости больных после хирургического удаления и лучевой терапии составляет не более года, при этом глиобластомы рецидивируют в 100 % случаев, чаще всего в пределах 2 см от места резекции. В ряде экспериментов *in vitro* и *in vivo*, а также в клинических исследованиях была подтверждена эффективность фотодинамической терапии (ФДТ) при лечении опухолей головного мозга.

Цель исследования. Оценка эффективности ФДТ с использованием липосомальной лекарственной формы (ЛЛФ) отечественного фотосенсибилизатора тиосенс на глиоме С6 крыс.

Материалы и методы. Глиому С6 перевивали интракраниально крысам породы Wistar по 400×10^3 опухолевых клеток. Тиосенс в ЛЛФ с максимумом поглощения в спектральном диапазоне 720 нм вводили внутривенно в дозе 3 мг/кг через 6 дней после перевивки опухоли и за 24 ч до ФДТ. Уровень накопления тиосенса оценивали спектрально-флюоресцентным методом. Лазерное облучение проводили при плотности мощности 100 мВт/5 мм² в течение 10 мин (120 Дж/5 мм²). Лизомустин вводили однократно в дозе 80 мг/кг. Критерием эффективности служило увеличение продолжительности жизни (УПЖ, %) опытных крыс по сравнению с контрольными животными.

Результаты. Установлено, что тиосенс в ЛЛФ проникает через гематоэнцефалический барьер и селективно накапливается в глиоме С6. При анализе динамики уровня и селективности накопления препарата в опухолевой ткани установлено наиболее оптимальное время ФДТ (7-й день после перевивки опухоли). Терапевтическая эффективность ФДТ с использованием тиосенса в ЛЛФ при лазерном облучении через трепанационное отверстие составляет 42 % УПЖ. При дополнительной декомпрессионной краниэтомии (3 × 4 мм) УПЖ увеличивается до 54 %. Эффективность ФДТ после резекции опухоли составляет 68 %. Наибольшая эффективность наблюдается при комбинированном лечении с использованием хирургического удаления опухоли, химиотерапии и ФДТ и достигает 84 %.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют об эффективности ФДТ с использованием ЛЛФ тиосенса при комбинированном лечении глиом.

Р.В. Иванов

Наноразмерный полимерный комплекс паклитаксела: получение, физико-химические свойства, биологическая активность

ЗАО «Исследовательский институт химического разнообразия», Химки, Московская область

В 1990-х гг. для лечения ряда онкологических заболеваний, таких, как рак легкого, карцинома яичника и молочной железы, саркома Капоши и др. стали применять препарат таксол, действующим веществом в котором является паклитаксел. Успех этого препарат привел к объему его продаж в размере 1,5 млрд. долларов к 2000 г. Однако, не смотря на все положительные терапевтические эффекты, препарат таксол обладает рядом существенных недостатков, которые сужают сферу его применения на практике и делают лечение тяжело переносимым для пациентов. Самым главным недостатком препарата таксол и его дженериков является наличие в их составе комплексного растворителя (смесь полиоксидилированного касторового масла и абсолютного спирта), который вызывает сильную аллергическую реакцию в организме пациента. Использование такого растворителя, с одной стороны, необходимо для повышения растворимости высоколипофильного паклитаксела в водных средах (физиологический раствор, раствор глюкозы и т.д.), а с другой стороны, приводит к тому, что внутривенное влияние препарата осуществляется в течение 3 или 24 ч.

Значительное количество востребованных лекарственных средств, относящихся к различным фармакологическим группам, которые вводятся как энтерально, так и парентерально, имеют сравнительно низкие фармакологические показатели.

Создание наноразмерных комплексов подобных лекарственных средств, к которым и относится пак-

литаксел, с биосовместимыми и/или биodeградируемыми синтетическими и природными полимерами позволяет решить подобные задачи. Уникальность разработки заключается в том, что молекулы паклитаксела остаются с точки зрения их химического строения неизменными, т.е. не образуется никаких новых химических связей. Поэтому и не меняется природа физиологической активности, проявляемая лекарственной субстанцией. Размер комплекса в водных средах не превышает 50 нм, что (как известно из литературных данных) оптимально для транспорта в опухолевую ткань. Полученный наноразмерный полимерный комплекс был апробирован в серии *in vivo* экспериментов, в результате чего подтвердились улучшение фармакологических свойств по сравнению с образцом сравнения (паклитаксел). В частности, наблюдалось снижение проявления побочных действий со стороны действующего вещества (лимитирующее местно-раздражающее действие, характерное для таксола), у 50 % животных опухоль исчезла, а продолжительность жизни других 50 % увеличилась в 1,3 – 2 раза, в МТД экспериментах активность увеличилась в 2 раза. Растворимость наноразмерных полимерных комплексов, определенная в 5 средах, была в среднем в 500 раз выше по сравнению с паклитакселем.

Л.И. Корытова, Н.Д. Олтаржевская, В.П. Сокурено, М.А. Коровина

Эффективность применения наногидрогелевых материалов «Колетекс-гель-ДНК», «Колетекс-гель-ДНК-Л»

Российский научный центр радиологии и хирургических технологий, Санкт-Петербург

Введение. Химиолучевое лечение (ХЛЛ) больных раком ротоглотки сопряжено с высокой местной токсичностью слизистых оболочек, болевым синдромом, полинутриентной недостаточностью, что лимитирует проведение терапии в полном объеме.

Цель исследования. Оценить эффективность местного использования наноструктурной биокомпозиции, обеспечивающей дозированное и пролонгированное поступление дерината и лидокаина на слизистую оболочку орофарингеальной зоны по критериям частоты, степени выраженности мукозитов, болевого синдрома и показателям трофологического статуса.

Материалы и методы. Схема лечения включала 2 курса индукционной химиотерапии по схеме ТРФ с последующим ХЛЛ на фоне еженедельного введения карбоплатина (AUG 1,5). Гель, состоящий из дерината, лидокаина и альгината натрия, применяли у 68 больных раком ротоглотки во время облучения (3 – 5 раз в день, 3 – 5 мл) и в течение месяца по окончании (2-3 раза). В контрольной группе ХЛЛ проводили на фоне общепринятых профилактических мероприятий.

Результаты. Мукозиты 3-й степени наблюдали в 43 % случаев (СОД 36 – 44 Гр) против 59 % в группе контроля. Анальгетики использовали 68 % больных против 41 %, потеря массы тела за период лечения составила 12 % и 6 % в пользу адресного подведения лекарственных препаратов.

Выводы. Местное использование биоактивных полимеров природного происхождения с интеркорпорированными лекарственными препаратами (наногелей «Колетекс-гель») снижает уровень и степень выраженности мукозитов, болевого синдрома в полости рта, что позволяет в щадящих условиях провести агрессивное химиолучевое лечение опухолей ротоглотки в полном объеме.

М.М. Марченко, Г.П. Копильчук, О.В. Кеца

Влияние липосомной формы 5-(5',6' бензкумароил-3')-метиламиноурацила на детоксикационную систему карциномы Герена крыс-опухоленосителей

Черновицкий национальный университет

имени Юрия Федьковича, Черновцы, Украина

Введение. Высокая активность системы детоксикации позволяет клеткам избегать вредного действия токсичных веществ, однако это же обстоятельство лежит в основе высокой резистентности опухолевых клеток и интенсификации онкогенеза. Препараты на основе кумарина проявляют противоопухолевую активность, но в то же время они являются токсичными для организма.

Цель исследования. Изучить влияние липосомной формы 5-(5',6' бензкумароил-3')-метиламиноурацила (ЛБКУ) на активность ферментов системы детоксикации карциномы Герена у крыс-опухоленосителей.

Материалы и методы Исследования проводились на белых беспородных крысах массой 130 – 150 г. В качестве модели злокачественного новообразования использовали карциному Герена. Липосомную форму БКУ вводили *per os*, начиная с 7-го дня после трансплантации опухоли. Липосомы готовили из смеси спиртных растворов фосфатидилхолина и холестерина (молярное соотношение 7:3). Активность ферментов 1-й (цитохрома Р-450) и 2-й (глутатионтрансферазы (ГТ)) фаз детоксикации определяли в микросомной фракции карциномы Герена на 7-е, 14-е и 21-е сут после трансплантации опухоли.

Результаты. Введение ЛБКУ индуцирует усиленный синтез изоформ цитохрома Р-450 с молекулярными массами 53, 56 кДа. В то же время повышается общая гидроксилазная активность гемопротейна в микросомной фракции карциномы Герена. Повышение активности цитохрома Р-450 приводит к инициации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в исследуемой ткани. В ответ на это быстро реагирует II фаза биотрансформации за счет повышения активности ГТ на 14-е сут эксперимента. Однако темпы активации ПОЛ в опухолевой ткани превышают возможности ее детоксикационной системы, и уже на 21-е сут эксперимента вместе с усиленной активацией ПОЛ наблюдается понижение активности ферментов I и II фаз детоксикации в условиях действия ЛБКУ сравнительно с применением неинкапсулированной формы БКУ.

Выводы. Таким образом, использование липосомной формы БКУ проявляет цитотоксическое действие БКУ на ткань новообразования на терминальных этапах онкогенеза в результате понижения детоксикационной функции и повышения свободнорадикальных процессов в микросомной фракции карциномы Герена. В то же время понижается токсическое действие БКУ на органы организма-опухоленосителя.

Г.Н. Маслякова¹, Л.В. Сулейманова¹, Г.С. Терентюк², В.В. Тучин², Н.Г. Хлебцов³

Морфологические изменения во внутренних органах крыс после внутривенного введения золотых наночастиц

¹Кафедра патологической анатомии ГОУ ВПО

«Саратовский ГМУ Росздрава», Саратов

²Кафедра оптики и биомедицинской физики,

Саратовский государственный университет, Саратов

³Институт биохимии физиологии растений

и микроорганизмов РАН

Задачи исследования. Выявление морфологических изменений в тканях висцеральных органов крыс после внутривенного введения золотых наночастиц различных размеров.

Материалы и методы. Белым беспородным крысам (самцы, массой 180 – 200 г) внутривенно вводились наночастицы размерами 15 и 50 нм и наноболочки диаметром 160 нм в количестве 1 мл (57мкг/мл). Через 24 ч после этого образцы тканей селезенки, печени, легкого и почек забирались для гистологического исследования.

Результаты. Введение золотых наночастиц размерами 15, 50 и 160 нм вызывает следующие морфологические изменения в тканях висцеральных органов. В белой пульпе селезенки отсутствуют центры размножения. В красной пульпе — полнокровие. При воздействии наночастиц размером 50 нм обнаруживались признаки апоптоза и более выраженное нарушение кровообращения в просвете крупных сосудов: феномен сепарации с отложением пигмента между плазмой и форменными элементами крови. В печени во всех наблюдениях было выражено полнокровие, но при воздействии наночастиц размером 15нм наблюдались более выраженные дистрофические изменения в гепатоцитах. В легких гистологическая картина не имела заметных отличий при введении наночастиц разного размера. Были умеренно выражены гиперемия, определялись очаги острой эмфиземы. В почках клубочки умеренно гиперемированы, в некоторых из них отмечается пролиферация мезангиальных клеток, в единичных случаях в просвете капсулы Шумлянского наблюдалось скопление серозного экссудата. В цитоплазме клеток эпителия проксимальных извитых канальцев развивалась зернистая дистрофия. Стенки кровеносных сосудов во всех органах были несколько утолщены. Отмечалась вакуольная дегенерация гладкомышечных клеток.

Выводы: При внутривенном введении наночастиц отмечались различные по степени выраженности дистрофические микроциркуляторные изменения во всех исследуемых органах: наночастицы 15 и 50 нм вызывали более выраженные дистрофические изменения по сравнению с золотыми наноболочками, а те вызывают более выраженные изменения со стороны микроциркуляторного русла.

Г.А. Меерович¹, И.Г. Меерович², А.К. Волков³, М.А. Грин⁴, В.М. Деркачев³, В.И. Поздеев⁴, А.Г. Ципровский⁴, В.М. Негримовский³, С.В. Барканова³, З.С. Смирнова², Н.А. Оборотова², Е.А. Лукьянец³, В.Б. Лощенов¹, А.Ф. Миронов⁴, Г.Н. Ворожцов³, А.Ю. Барышников²

Эффективные наноструктурированные фотосенсибилизаторы ближнего инфракрасного диапазона

¹ЦЕНИ институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва

²ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

³ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва

⁴МИТХТ им. М.В. Ломоносова, Москва

Материалы и методы. Исследования проводились на гидрофобных фенилтио- и алкилтио-производных фталоцианинов: тетра-3-фенилтиофталоцианине алюминия гидроксида (тиосенс) и окта-4,5-децилтио-окта-3,6-хлорофталоцианине цинка (октасенс) с поглощением в спектральном диапазоне 715 - 740 нм, и производных N-алкоксициклоимидов бактериохлорина *p*, поглощающих в диапазоне 790 - 800 нм. Для введения ФС *in vivo* были созданы наноструктурированные (липосомальные и мицеллярные) инъекционные формы. Тио-

сенси вводится в виде липосомальной дисперсии с активным веществом, введенным в липидный бислой (размер липосом 100 – 150 нм), октасенс — в виде мицеллярной дисперсии на основе Эмукола (размер везикул 180 – 215 нм), производное алкоксициклоимида бактериохлорина *p* — в виде мицеллярных дисперсий на основе кремофора (размер везикул 12 – 15 нм), липосомальной дисперсии с активным веществом, введенным в липидный бислой (размер липосом 130 – 190 нм), мицеллярной дисперсии на основе Эмукола (размер везикул 180 – 260 нм).

Для всех фотосенсибилизаторов изучались наноструктурные параметры, спектры поглощения и флуоресценции *in vivo*, динамика уровня и селективности накопления активного вещества в опухоли и его выведения из нормальной ткани, эффективность ФДТ.

Для исследования *in vivo* фотосенсибилизаторы вводились мышам F1 с опухолью Эрлиха (ELD) и мышам BDF1 с меланомой B16, внутримышечно перевитыми соответственно за 4 и 7 дней до введения препаратов.

Результаты. Фотосенсибилизаторы эффективно и селективно накапливаются в опухоли по сравнению с нормальной тканью. Индекс селективности накопления тиосенса превышает 4,5:1, октасенса — достигает 7:1, эфира оксима алкоксициклоимидов бактериохлорина *p* — 6:1. В нормальной ткани содержание тиосенса и октасенса уменьшается до предела обнаружения за 5 – 7 дней, а эфира оксима алкоксициклоимидов бактериохлорина *p* — менее чем за 8 ч.

ФДТ опухоли Эрлиха с использованием липосомального тиосенса в дозе 6 мг/кг (облучение через 4 – 5 ч после введения с плотностью мощности 400 мВт/см² в течение 20 мин) и с использованием мицеллярной дисперсии октасенса в дозе 2 мг/кг (облучение с плотностью мощности 150 мВт/см² в течение 20 мин) вызывает эффективное торможение роста опухоли, индекс ТРО достигает 80 %. При ФДТ меланомы B16 с использованием производного алкоксициклоимида бактериохлорина *p* в дозе до 1 мг/кг (облучение с плотностью мощности 200 Вт/см² в течение 20 мин) индекс ТРО достигал 91 %, увеличение продолжительности жизни животных — 61 %.

Выводы. Предложенные новые эффективные наноструктурированные фотосенсибилизаторы на основе фенилтио- и алкилтиопроизводных фталоцианинов и производного N-алкоксициклоимида бактериохлорина *p* характеризуются высокой селективностью накопления и избирательностью действия, быстрым выведением из нормальной ткани и высокой эффективностью при ФДТ опухолей больших размеров, включая меланому.

Работа по производным фталоцианинов выполнена при финансовой поддержке Правительства Москвы. Работа по производным бактериохлоринов поддержана грантом РФФИ 07-03-00452-а. Работа к.б.н. Меев-ровича И.Г. поддержана грантом Президента РФ МК-4675.2008.4.

Н.А. Плотникова, Т.В. Харитонова, С.П. Кемайкин, С.В. Харитонов, Е.В. Кириченко

Механизмы неоплазии при экспериментальном опухолевом росте
ГОУ ВПО «Мордовский госуниверситет им. Н.П. Огарева», Саранск

Цель исследования. Изучение морфофункциональных механизмов ангиогенеза в условиях экспериментального уретанового опухолевого роста.

Материалы и методы. Исследования проводились на 120 нелинейных белых мышах. Изучался канцерогенный эффект уретана и онкопротекторный эффект антиоксидантов. Неоплазия изучалась в 2 сериях

экспериментальных животных: 1-я серия — интактные мыши; 2-я (контрольная) — моделирование опухолей легких путем однократного внутрибрюшинного введения уретана в дозе 1 г/кг без введения антиоксидантов. Оценка морфологических изменений ткани легкого производилась традиционным светооптическим методом. Иммуногистохимическое исследование производилось авидин-биотиновым методом.

Результаты. На фоне введения уретана в 100 % случаев возникали множественные мультицентричные аденомы легкого. При микроскопическом исследовании опухолевая ткань была представлена железистыми, трабекулярными, сосочковыми, микрокистозными, солидными и альвеолярными структурами, состоящими из клеток различных размеров и формы. Изучалась ангиоархитектоника сосудов микроциркуляторного русла в опухолевой ткани и в ткани легких интактных животных. Отмечено, что в норме микроциркуляторные сосуды межальвеолярных перегородок представлены узкими капиллярами соматического типа, в которых форменные элементы крови движутся в один ряд. Внутренний слой представлен эндотелиальными клетками, расположенными на базальной мембране и связанными между собой плотными и — значительно реже — щелевидными контактами цитолеммы. В процессе роста и развития экспериментальных новообразований в легких мышей нами выявлялось характерное для неоплазий усиление процессов неоплазии. Отмечалось значительное расширение просвета капилляров, повышение их проницаемости с развитием явлений периваскулярного отека, а также образование щелевидных межэндотелиальных контактов. Наблюдалась интенсивная пролиферация эндотелиальных клеток (положительная реакция на CD31 и CD34) и миграция их в окружающую соединительную ткань с последующим образованием капиллярных петель.

Выводы. Таким образом, неоплазия в исследованных нами аденомах легкого осуществлялась за счет усиленной пролиферации клеток эндотелия, сопровождающегося изменением характера межэндотелиальных контактов и дальнейшим формированием структурно-функциональных элементов, участвующих в образовании капилляров.

А.В. Рябова^{1,2}, А.И. Волкова^{1,2}, В.Б. Лощенов^{1,2}, С.С. Харнас³, О.Л. Капия⁴, Г.Н. Ворожцов⁴

Каталитическая терапия опухолей печени с использованием наноземлюли тарафта

¹ЦНИИ институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва

²ЗАО «Биоспек», Москва

³ММА им. И.М. Сеченова, Москва

⁴ФГУП «ГНЦ «НИОПИК», Москва

Дальнейший прогресс в современной клинической онкологии, помимо создания новых эффективных химиопрепаратов, связывают с использованием локальных методов воздействия. Один из них — масляная химиоэмболизация печеночной артерии (МХЭПА), при которой используются небольшие дозы химиопрепаратов, поэтому системные токсические проявления наблюдаются редко. На сегодняшний день имеется лишь небольшое число публикаций, посвященных МХЭПА при метастазах в печень колоректального рака и опухолей других локализаций.

В настоящем исследовании были разработаны метод и оборудование для получения масляной суспензии тарафта для химиоэмболизации воротной вены, исследованы ее физические свойства и каталитическая активность при окислении аскорбиновой кислоты. Спек-

троскопический контроль позволяет оценивать степень однородности и уровень дисперсности суспензии. Гидрофобная суспензия терафала, приготовленная с помощью собранного макета, включала стабилизированные капли липиодола в урографине; то есть являлась стабилизированной во времени эмульсией. При этом размеры капель составляли 40 и 250 нм.

Исследование распределения терафала в различных тканях при создании гидрофобного депо терафала на экспериментальных животных показало, что данный метод позволяет достигнуть суперселективного накопления препарата: вся доля печени, в которую была инъецирована суспензия, спустя 6 дней содержала повышенную концентрацию терафала, частично в форме нано- и микрообразований, при этом концентрация была наибольшей в центральной части депо; после создания внутрипеченочного депо гидрофобной суспензии терафала при дозе по терафалу 40 мг/кг спустя 6 дней все органы, кроме печени, содержали незначительное количество терафала, не превышающее 2,5 % максимальной возможной средней его концентрации.

Работа проведена при поддержке Правительства Москвы.

Г.С. Терентюк¹, Н.Г. Хлебцов², В.А. Богатырев²,
Л.А. Дыкман², Б.Н. Хлебцов², Г.Н. Маслякова³,
И.Л. Максимова¹, Г.Г. Акчурина¹,
А.В. Шантроха¹, В.В. Тучин¹

Морфологические изменения в нормальных и опухолевых тканях и показатели иммунного статуса при накоплении золотых наночастиц

¹Саратовский госуниверситет им. Н.Г. Чернышевского,

²Институт биохимии физиологии растений и микроорганизмов РАН,

³Саратовский медицинский госуниверситет

Применение золотых наночастиц открывает новые перспективы для селективной фототермической терапии и диагностики в онкологии. В работе исследована динамика концентрации золота в крови при внутривенном введении суспензии пэгиллированных золотых наночастиц. Особое внимание уделяется размерно-зависимым эффектам при циркуляции в кровотоке и накоплении частиц в различных органах лабораторных животных, в том числе в привитой опухоли. Анализируются также морфологические изменения, возникающие в различных тканях при системном введении наночастиц, и влияние на иммунный статус организма. На основе количественного определения содержания золота в биотканях методом атомно-абсорбционной спектроскопии установлено, что накопление наночастиц в органах характеризуется размерной зависимостью. Полученная в ходе исследования временная зависимость уровня концентрации золота в крови во временном интервале от 30 мин до нескольких часов после введения аппроксимируется экспоненциальной функцией с коэффициентом 0,013. По данным гистологических исследований изменения во внутренних органах при системном введении золотых наночастиц имеют размерно-обусловленный характер. В сосудах наблюдалась сепарация клеток крови и плазмы, незначительная дистрофия клеток паренхиматозных органов. Изменения в головном мозге не имеют размерной зависимости от диаметра наночастиц и характеризуются незначительной гиперемией и отеком. В работе исследована временная зависимость пассивного накопления золотых наночастиц в опухолевой ткани при внутривенном введении. Эксперименты проведены на белых лабораторных крысах с переносимыми опухолями рака почки. Полученные результаты достоверно подтверждают повышение концентрации золота в опухолевой

ткани по сравнению с нормальными тканями при пассивной доставке. Данное повышение концентрации золота в опухолевой ткани имеет 2 выраженных максимума: 1-й максимум наблюдается в 1-й час после введения, а 2-е повышение уровня золота происходит примерно спустя 24 ч после введения. Повышение эффективности накопления частиц в опухоли может быть осуществлено при их конъюгации с соответствующими опухолевыми антителами или веществами, селективно накапливающимися в опухоли. В работе предложен способ конъюгирования фенилаланина с золотыми наночастицами для повышения селективности накопления золота в меланоме.

И.Д. Трещалин¹, Э.Р. Переверзева¹, Д.А. Бодягин¹,
М.И. Трещалин¹, С.Э. Гельперина², О.О. Максименко²
Изменение токсикологического профиля доксорубина, ассоциированного с наночастицами

¹ГУ НИИ по изысканию новых антибиотиков

им. Г.Ф. Гаузе РАМН, Москва

²«Научно-производственный комплекс «Наносистема», Москва

Задача исследования. Изучение токсических свойств доксорубина (Д), ассоциированного с полибутиладианоакрилатными наночастицами (НЧ).

Материалы и методы. Исследование проведено на крысах-самцах линии Wistar массой 120 – 150 г. Д вводили в хвостовую вену 3-кратно с интервалом 72 ч в разовой дозе 1,5 мг/кг в следующих лекарственных формах: 0,2%-ный водный раствор, 0,2%-ный раствор в 1%-ном полисорбате (Д-ПС), 0,2%-ный водный раствор Д на НЧ (Д-НЧ), 0,2%-ный раствор Д на НЧ в 1%-ном растворе ПС (Д-НЧ-ПС). Контролем служили крысы, получавшие НЧ в растворе ПС, и интактные животные. На протяжении введений ежедневно следили за состоянием и поведением животных, 1 раз в неделю животных взвешивали. На 3-и, 5-е, 7-е, 14-е и 30-е сут после окончания курса введений препаратов производили клинический анализ крови. На 15-е и 30-е сут снимали ЭКГ во 2-м стандартном отведении. Животных умерщвляли на 15-е и 30-е сут после окончания введений, определяли массовые коэффициенты (МК) сердца, легкого, почки, печени, семенника, селезенки и тимуса. Семенник и сердце подвергали патоморфологическому исследованию.

Результаты. При введении всех лекарственных форм препарата особенностей в состоянии и поведении животных не обнаружено. Гастроинтестинальная токсичность проявлялась по критерию задержки прироста массы тела. Животные всех групп, получавших лекарственные формы Д на НЧ, прибавляли в массу тела достоверно меньше, чем животные, получавшие Д в виде водного раствора. МК сердца и почки не изменялись ни в одной из групп на оба срока наблюдения, снижение МК печени было отмечено в группах Д и Д-НЧ-ПС только на 15-е сут. В группах Д-ПС; Д-НЧ и Д-НЧ-ПС к 30-м сут достоверно повышались МК легкого. На 15-е сут было выявлено снижение МК тимуса в группах Д, Д-ПС и Д-НЧ, тогда как МК селезенки уменьшались только в группе Д-НЧ. Достоверное уменьшение МК семенников возникало отсроченно во всех группах животных, получавших Д, независимо от лекарственной формы.

Хотя истинной лейкоцитоз- и эритроцитопении не наблюдалось ни в одной группе, применение Д-ПС; Д-НЧ и Д-НЧ-ПС приводило к снижению общего количества лейкоцитов, эритроцитов и гемоглобина, которое носило двухфазный характер и возникало на 3-и и 7-е сут после курса. У животных, получавших Д в стандартной лекарственной форме, эти показатели снижались толь-

ко на 7-е сут. Подсчет формулы крови показал, что снижение общего количества лейкоцитов происходило за счет снижения количества лимфоцитов.

При анализе ЭКГ в группе Д было обнаружено увеличение интервала QT к 15-м сут по окончании введения препарата. К 30-м сут этот эффект усиливался, развивалась тахикардия. К этому сроку наблюдения декомпенсация сердечной деятельности возникала также в группах Д-ПС и Д-НЧ. Важно отметить, что применение Д-НЧ-ПС не приводило к увеличению ЧСС и интервала QT, то есть к развитию декомпенсации сердечной деятельности.

При микроскопическом исследовании сердечной мышцы на 15-е сут после курса введений Д и Д-ПС в миокарде были найдены единичные мелкие лимфоидные инфильтраты, немногочисленные очаги токсической кардиомиопатии, отек отдельных мышечных волокон. К 30-м сут эксперимента появлялись зоны отека миокарда, очаги вакуолизации и дезорганизации мышечных волокон, лимфоидные инфильтраты в области атрофии мышечных волокон. У крыс, получавших Д-НЧ и Д-НЧ-ПС, на 15-е сут после курса морфологические изменения в миокарде были такими же, как у животных, которым вводили водный раствор Д. На 30-е сут наблюдения у 2 крыс из 6 из группы Д-НЧ степень выраженности патологического процесса была слабее, что проявлялось в уменьшении количества и размеров зон отека в миокарде. Вакуолизация и атрофия мышечных волокон, которая была отмечена главным образом вблизи сосудов, сопровождалась умеренной лимфоидной инфильтрацией. На 30-е сут после применения Д-НЧ-ПС в сердечной мышце всех подопытных крыс количество и размеры очагов отека, вакуолизации и атрофии мышечных волокон были меньше по сравнению с группой животных, получавших Д в виде водного раствора. Лимфоидные инфильтраты отсутствовали.

Применение Д, Д-ПС, Д-НЧ и Д-НЧ-ПС приводило к 15-м сут после курса введений к дисконфлексации сперматогенного эпителия в части канальцев и слущиванию его в просвет канальцев в виде «токсических шаров». К 30-м сут наблюдения в большинстве канальцев развивалась глубокая атрофия сперматогенного эпителия. В некоторых канальцах отмечен некроз. При использовании лекарственной формы Д-НЧ на 30-е сут в отдельных канальцах сохранялись все типы клеточных ассоциаций, собственных нормальному сперматогенезу. На 30-е сут после курса введений ДОКС-НЧ-ПС в 1/3 канальцев сперматогенез был сохранен частично или полностью.

Выводы. Связывание доксорубина с полибутилцианоакрилатными наночастицами усиливает его гастроинтестинальную и гематотоксичность, но ослабляет кардио- и тестикулярную токсичность. Добавление к наносомальной лекарственной форме полисорбата 80 способствует значительному снижению гемато-, кардио- и тестикулярной токсичности.

В.Ф. Хохлов¹, П.В. Ижевский¹, В.Н. Кулаков¹, А.А. Липенгольц¹, И.И. Слободяник¹, Ю.А. Федотов²

Фармакокинетическая оценка препаратов для бинарной лучевой терапии в рамках скринингового исследования

¹Федеральный медицинский биофизический центр

им. А.И. Бурназяна ФМБА России

²Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ, Москва

Введение. Дозаплиментарные методы (ДСМ) лучевой терапии (ЛТ) — нейтронозахватная терапия (НЗТ) и фотоннозахватная терапия (ФЗТ) — отличаются более высокой избирательностью по сравнению с традиционными методами ЛТ. Это обусловлено испусканием вторичного короткопробежного излучения дозапли-

ментарным агентом (ДСА), находящимся в мишени, при захвате им кванта внешнего первичного излучения. Для использования ДСМ при ЛТ требуется разработка специальных препаратов, в состав которых входят элементы являющиеся ДСА. В процессе создания таких препаратов необходимо проводить их фармакокинетическое изучение. Разработка методов изучения подобных препаратов является актуальной научно-практической задачей.

Задачи исследования. Определение содержания в биологических тканях ДСА с высоким зарядом ядра (Gd или Bi) методом рентгено-флюоресцентного анализа.

Материалы и методы. Экспериментальное фармакокинетическое исследование препаратов для ФЗТ с Gd (фонетраст) и Bi (висиптаст) проводили на мышах-самках линии СВА с перевитой мышью меланомой В16. На каждую временную точку брали по 6 животных, включая контроль. Изучаемые препараты вводили интратканевым и интратуморальным способами множественными инъекциями. После введения препарата животных забивали декапитацией через 5; 15; 30; 60 и 120 мин. У забитых животных изучались образцы крови, печени, почек, головного мозга, мышцы, места введения препарата и мочи.

Результаты. Обнаружено повышение содержания препаратов в 3 зонах: месте введения, крови и моче животных. Содержание Gd и Bi в остальных органах было незначительным. Период полувыведения препарата из опухоли после интратуморального введения мышам с перевитой меланомой составлял около 30 мин. Полученные результаты хорошо совпадают с результатами экспериментального фармакокинетического изучения препарата с гадолинием радиоизотопным методом.

Выводы. Проведенное исследование доказывает, что препараты на основе Gd и Bi обладают малым периодом полувыведения и не накапливаются в биологических тканях, поэтому могут эффективно применяться в бинарных лучевых технологиях.

А.И. Шихлярова, Л.П. Барсукова, Г.Я. Марьяновская, Е.А. Шейко, О.С. Белан, Д.В. Леонтьева

Квантовые эффекты и энергетический профиль лимфоцитов крови при аутогемохимиотерапии рака легкого

ФГУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт Росмедтехнологий», Ростов-на-Дону

Введение. Одним из аспектов развития нанобиотехнологий, затрагивающих воспроизведение сниженного при росте опухолей потенциала субклеточных структур энергообеспечения, является фотобиологическое действие некогерентного оптического излучения.

Задача исследования. Изучение возможности интенсификации энергетического метаболизма лимфоцитов путем активации дегидрогеназ с помощью светодиагностики, учитывая, что молекулярная структура ферментов имеет фоточувствительные компоненты от флавиновых нуклеотидов до системы цитохромов.

Решение этой задачи было связано с необходимостью оптимизации химиотерапии на аутокрови больных неоперабельным раком легкого с помощью готовых природных механизмов квантовых взаимодействий.

Материалы и методы. Материалом для исследования служила венозная кровь больных раком легкого (n=24), используемая при инкубации с цитостатиками для проведения аутогемохимиотерапии. Кровь подвергали воздействию светодиагностического излучения (СДИ) с длиной волны $\lambda = 630$ нм (красный свет) в дозе 0,31

Дж/см². Ферментативную активность лимфоцитов определяли цитохимическим методом по Нарциссову, используя статистику накопления гранул формазана в локусах сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и альфа-глицерофосфатдегидрогеназы (α -ГФДГ).

Результаты. После воздействий *in vitro* на кровь онкобольных в непрерывном режиме СДИ иммунокомпетентные клетки реагировали усилением энергизации митохондрий, увеличивая среднее количество СДГ-гранул в 1,5 раза по сравнению с их содержанием в необлученных светом контрольных образцах. Наиболее выраженный эффект квантовых взаимодействий сказался при оценке относительных величин — соотношения насыщенных гранулами СДГ лимфоцитов ($J_{\text{акт.}}$) и обедненных «нулевых» лимфоцитов (J_0). На фоне устойчивого

повышения средних значений СДГ значительно повышалась частота выявления лимфоцитов с высоким содержанием депозитов. Низкий уровень J_0 свидетельствовал о реципрокных отношениях пулов клеток, а коэффициент соотношения $J_{\text{акт.}}/J_0$ увеличивался в 1,8 раз по отношению к фону. По сравнению с СДГ α -ГФДГ демонстрировала меньшую чувствительность к СДИ. Иными словами, после облучения красным светом проявилась модуляция процессов энергопродукции со снижением интенсивности гликолиза в силу оптимизации работы цикла Кребса. В результате 1-го, реже — 2 курсов фотомодифицированной АГХТ удалось осуществить оперативное лечение ранее неоперабельных больных раком легкого, избежать развития стрессорных состояний, повысить неспецифическую резистентность.