

культивируемых клеток дифференцируется в зрелые ДК. Есть данные (H. R. Bohnenkamp et al., 2004) о том, что около 40 % исходных МНЛ подвергается программированной клеточной гибели и это может быть причиной невысокого выхода генерируемых ДК. Ранее нами было продемонстрировано, что при получении ДК из культуры МНЛ, активированных ИЛ-2, можно достичь большего пула зрелых ДК.

Проведена оценка апоптотической гибели МНЛ, активированных ИЛ-2 (ЛАК). Изучена жизнеспособность незрелых и зрелых ДК, генерированных из ЛАК. МНЛ выделяли на градиенте фиколаурографина и инкубировали в пластиковых флаконах 4 ч. Отбирали неприлипшие клетки (лимфоциты), культивировали их в течение 48 ч с ИЛ-2 (1000 ЕД/мл). Из полученных ЛАК генерировали ДК в присутствии ГМ-КСФ, ИЛ-4 и ФНО- α (ДК_{ЛАК}). Контролировали иммунофенотипы ЛАК и ДК_{ЛАК} на проточном цитофлуориметре. Апоптоз ЛАК, незрелых и зрелых ДК_{ЛАК} оценивали с помощью теста по окрашиванию аннексином V (An-V) и пропидий йодидом (PI) на проточном цитофлуориметре.

Иммунофенотип ЛАК характеризовался невысокой экспрессией CD3, но при этом значительной экспрессией поверхностных антигенов естественных киллеров CD16, CD56, CD57, молекул адгезии CD58 и незначительной экспрессией маркера CD14 (0–20 %). Окрашивание ЛАК, используемых для генерации ДК_{ЛАК} на 2-е сутки культивирования, An-V, PI и одновременно An-V/PI практически не выявило апоптотических или некротизированных клеток. Зрелые ДК_{ЛАК} экспрессировали костимулирующие молекулы CD40 (37–40 %), CD80 (34–86 %), CD86 (23–74 %), маркеры ДК CD83 (38–90 %), CD1a (10–40 %) и маркер моноцитов CD14 (0–17 %). При оценке апоптоза незрелых ДК_{ЛАК} было отмечено окрашивание An-V+/PI- в 5 % случаев и практически отсутствие An-V-/PI+ и An-V+/PI+. Анализ зрелых ДК_{ЛАК} показал отсутствие окрашивания An-V+/PI- и An-V+/PI+, а An-V+/PI+ составило 7 %. Таким образом, при созревании ДК_{ЛАК} сохраняют высокую жизнеспособность, а также дают больший выход зрелых ДК по сравнению с пулом, получаемым из МНЛ.

ДИАГНОСТИКА

И. Г. Гатауллин, С. В. Петров, А. В. Изуменов, А. И. Тихонов

Оптимизация диагностического алгоритма и выбор хирургической тактики у больных с колоректальными ворсинчатыми новообразованиями

Республиканский клинический онкологический диспансер, Казань

Введение. Ворсинчатые опухоли отличаются особо высокой склонностью к перерождению и рецидивированию. Не решены вопросы достоверного выявления злокачественной трансформации опухоли и единого подхода к ее лечению.

Цель исследования. Улучшение результатов диагностики и хирургического лечения больных с колоректальными ворсинчатыми новообразованиями.

Материал и методы. Работа основана на анализе результатов клинического обследования и лечения 91 пациента с крупными ворсинчатыми опухолями толстой кишки. Диагностический алгоритм включал фиброколоноскопию с биопсией, трансабдоминальное и трансректальное ультразвуковое исследование, компьютерную томографию. Биопсийный и операционный материалы отправляли на морфологическое исследование, включавшее стандартное гистологическое исследование и иммуногистохимический тест на тканевые биомаркеры. Иммуногистохимические исследования проведены с помощью набора моноклональных антител к маркеру Ki-67, мутантному белку гена p53, а также к РЭА. Научная новизна работы состоит в том, что впервые предложен и апробирован алгоритм обследования больных с колоректальными ворсинчатыми новообразованиями, включающий комплекс лучевых и иммуноморфологических методов исследования.

Результаты. На основании клинических наблюдений установлены дифференциально-диагностические лучевые критерии злокачественной трансформации ворсинчатых опухолей толстой кишки. Показано, что уровень экспрессии тканевых маркеров Ki-67, РЭА, p53 в дополнение к ультразвуковому, эндоскопическим, морфологическим критериям определяет прогноз и показания к выбору адекватного метода лечения. Комплексное предоперационное обследование, включающее эндоректальную эхографию, ультразвуковую колографию, компьютерную томографию и иммуногистохимические методы исследования, позволило снизить число местных рецидивов опухоли с 40,7 до 8,3 %.

Выводы. Предложенный алгоритм обследования пациентов способствовал более точной оценке распространенности процесса как по протяженности, так и по глубине инвазии в стенку кишки, позволил заподозрить злокачественную трансформацию ворсинчатой опухоли, что обеспечило выполнение радикальных операций, соответствующих объему и характеру поражения.

Е. Н. Захарова¹, В. Е. Кузнецова², А. В. Чудинов², А. С. Гриневич¹, Е. Ю. Лысюк¹, Д. Ю. Блохин¹, П. К. Иванов¹

Производные флюорофора Су5 для цитометрического анализа клеточных популяций

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

² Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва

Одним из современных и наиболее информативных инструментов изучения клеточных популяций является проточная цитофлуориметрия. Этот метод дает возможность анализировать не только состав зафиксированных клеток, но и прижизненную кинетику клеточных популяций в реальном времени.

Поскольку живые интактные клетки, как правило, обладают незначительной автофлуоресценцией, возможности данного метода прямо зависят от свойств флуоресцентных зондов. Большинство специальных зондов получают конъюгированием специфических биоактивных молекул (антител, лектинов, олигонуклеотидов и др.) с активными формами флюорофоров. Основными характеристиками флюорофоров являются: способность к возбуждению флуоресценции монохроматическим светом конструктивно заданной длины волны с эмиссией вторичных квантов в узких спектральных диапазонах; квантовый выход флуоресценции; коэффициент экстинкции; сдвиг Стокса; перекрывание спектров возбуждения и эмиссии. Для возбуждения флуоресценции чаще всего используют аргонный (488 нм), гелий-неоновый (633,5 нм) либо диодный (635–650 нм) лазеры.

В качестве флюорофоров наиболее часто используют флуоресцин изотиоционат (FITC), Р-фикоэритрин (РЕ), тетраметилродамин (TRITC), аллофикоцианин (APC). Данные зарубежные исследования свидетельствуют об эффективности использования в проточной цитометрии производных цианинового красителя Су5 в виде сукцинимидного эфира, который может связываться с антителами, авидином, ДНК и другими содержащими аминогруппы молекулами. Эти соединения имеют хорошую водорастворимость, нечувствительны к рН, практически не агрегируют при конъюгировании с другими молекулами.

Несмотря на преимущества цианиновых красителей, широкое использование их в проточной цитометрии в нашей стране ограничено в связи с высокой стоимостью. В лаборатории медицинской биотехнологии ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН были проведены сравнительные испытания трех производных цианинового красителя Су5, синтезированных в Институте молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН в виде сукцинимидных эфиров, обозначенных как Су5 ImD504, Су5 ImD506 и Су5 ImD507. В качестве специфического носителя использовали мышиные моноклональные ан-

титела (МКА) к В-клеточному рецептору лимфоцитов человека (а-CD20, клон ICO-180, производства НПЦ «МедБиоСпектр», Россия).

В результате проведенных исследований выявлено, что конъюгирование флюоресцентных красителей Cy5 ImD504, Cy5 ImD506 и Cy5 ImD507 с МКА не оказывает существенного влияния на их иммунохимические свойства, а полученные конъюгаты обладают высокими значениями средней интенсивности флюоресценции (MFI), что позволяет использовать их для цитометрического анализа клеточных популяций.

В. Г. Лихванцева¹, О. А. Анурова², М. В. Верещагина¹

Иммуногистохимические исследования в диагностике беспигментной увеальной меланомы

¹ ГУ НИИ глазных болезней РАМН, Москва

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

Введение. Увеальная меланома (УМ) составляет 80 % всех внутриглазных опухолей. Полиморфность клинического симптомокомплекса определяется чрезвычайной вариабельностью морфологических проявлений этой опухоли. Спектр заболеваний глазного дна, которые приходится дифференцировать с меланомой, включает более 50 нозологических форм. При этом ошибки могут возникать не только на клиническом, но и на гистоморфологическом уровне. Особую трудность представляют амеланотичные УМ.

Цель исследования. Раскрыть возможности и диагностическую значимость иммуногистохимических исследований (ИГХ) в диагностике беспигментных УМ.

Материал и методы. Проводили ИГХ на 57 парафиновых блоках УМ, среди которых было 16 беспигментных опухолей. В качестве маркеров использовали HMB-45, S-100, тирозиназу и MITF. Результаты ИГХ оценивали по двум показателям: частоте выявления и уровню экспрессии (выделяли слабую, умеренную и выраженную экспрессию или ее отсутствие). Проводили многофакторный корреляционный анализ. Анализировали степень пигментации, клеточный тип, степень инвазии склеры и сетчатки, протяженность опухоли и ее высоту и другие показатели в зависимости от экспрессии указанных выше маркеров.

Результаты. Как в пигментированных, так и в беспигментных УМ уровень экспрессии всех маркеров варьировал от слабого до выраженного. Частота выявления маркеров в беспигментных и пигментированных УМ была примерно одинакова: HMB-45 — 100 %, S-100 — 100 %, MITF — 100 %, тирозиназы — 93,8 %. Однако выраженность экспрессии тирозиназы и HMB-45 прямо коррелировала со степенью пигментации УМ ($p < 0,05$), в то время как экспрессия S-100 обратно коррелировала с инвазией опухолью сетчатки и склеры ($p < 0,001$). По мере прорастания опухолью сетчатки и склеры экспрессия S-100 снижалась. Выраженность экспрессии HMB-45 и MITF не зависела от типа клеточного строения, протяженности, степени инвазии опухолью склеры или сетчатки.

Выводы. Таким образом, данные свидетельствуют о возможности применения любого из маркеров (HMB-45, S-100, MITF и тирозиназы) в дифференциальной диагностике беспигментных УМ. 100%-е выявление HMB-45, S-100, MITF и 93,8%-е обнаружение тирозиназы подтверждают высокую надежность метода. Низкая экспрессия S-100 в УМ свидетельствует о инфильтративном росте опухоли и требует исключения инвазии сетчатки и склеры.

Т. Г. Николаева, Д. Ю. Блохин

Анеуплоидия опухолевых клеток — неблагоприятный прогностический признак течения онкологических заболеваний

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

Введение. Анеуплоидия (некратное гаплоидному изменение содержания ДНК в клетке) возникает в результате появления неустраняемых ошибок репликации ДНК в интерфазе или расхождения хромосом в митозе. В норме появление таких ошибок отслеживается аппаратом генетического самоконтроля клетки в процессе временной остановки митотического цикла в его «сверточных точках». При невозможности ликвидировать возникшее генетическое повреждение системами внутриклеточной репарации ситуация воспринимается как потенциально опасная, что приводит к активации программы гибели (апоптоза) поврежденной клетки. При опухоле-

вой трансформации и последующей прогрессии опухоли достаточно часто (более 50 % исследованных случаев) возникает анеуплоидный генотип опухолевых клеток. Появление клона анеуплоидных клеток свидетельствует о снижении в этих клетках функции генетического самоконтроля в «сверточных точках», что сопряжено с дестабилизацией генома. Снижение функции «сверточных точек» и/или подавление программы клеточной гибели сопровождается повышением устойчивости опухолевых клеток к противоопухолевой терапии, поскольку индуцируемые химиотерапевтическими лекарствами или ионизирующим облучением генетические повреждения также «ускользают» от системы самоконтроля и перестают активировать программу клеточной гибели.

Цель исследования. Оценка прогностической значимости показателя ДНК-плоидности клеток опухолей для предсказания течения опухолевого процесса в будущем.

Материал и методы. Проведены проточно-цитометрические исследования ДНК-плоидности опухолевых клеток человека, составляющих опухоли эпителиального происхождения различных локализаций, распространенности и стадийности процесса. Материалом явились хирургически удаленные в ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН эпителиальные опухоли молочной железы (РМЖ — 270 больных), легкого (РЛ — 96 больных), тканей полости рта и гортани (РПРГ — 206 больных), толстой кишки (РТК — 72 больных). Для большинства случаев прослежена динамика рецидивирования и показатели выживаемости.

Результаты. Показано, что при РМЖ диплоидные опухоли (ДО) встречаются в 31 % случаев, анеуплоидные (АО) — в 69 %, причем среди последних 8,8 % составляют многокლოновые опухоли. РПРГ представлен в равной степени ДО и АО (53 и 47 % соответственно). Доля АО при РЛ составила 80 %, а при РТК — 42 %. Для всех исследованных случаев вероятность рецидивирования ДО оказалась в 2–3 раза ниже, а сроки появления рецидивов и метастазов — в 1,5–2 раза дольше, чем для АО. Большинство метастазов в регионарные лимфоузлы исходит из многокლოновых АО, метастазы также являются преимущественно многокლოновыми АО и содержат аналогичную исходной опухоли или новую гипердиплоидную субпопуляцию клеток. Предоперационная лучевая терапия более эффективна у больных с ДО. Выживаемость больных с ДО оказалась в 1,5–2 раза выше. Результаты соответствуют данным литературы.

Выводы. Показана высокая прогностическая значимость показателя ДНК-плоидности опухолевых клеток эпителиального происхождения для оценки характера течения опухолевого процесса — длительности безрецидивной и кумулятивной выживаемости, вероятности метастазирования и эффективности проводимого лечения.

Р. Г. Пегов¹, А. В. Алясова¹, В. В. Новиков²

Растворимые антигены CD38 и CD50 при раке легкого

¹ Нижегородская государственная медицинская академия

² Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского

Цель исследования. Провести предварительную оценку изменения сыровоточного уровня растворимых антигенов CD38 и CD50 у больных раком легкого в процессе лечения.

Материал и методы. Под наблюдением находилось 14 больных раком легкого (РЛ) в возрасте 45–56 лет. У 9 пациентов установлена II стадия заболевания, у 5 — III стадия. В 9 случаях больным проведена пневмонэктомия или расширенная комбинированная пневмонэктомия, в остальных случаях — пробная лапаротомия. Содержание растворимых антигенов CD38 и CD50 определяли разработанными авторами иммуноферментными методами с помощью моноклональных антител до и после проведения операции. Контрольную группу составили 20 здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту с обследованными больными.

Результаты. Сыровоточное содержание растворимого антигена CD38 (sCD38) у больных раком легкого в среднем было в 1,6 раза ниже, чем в норме, и составило $116,8 \pm 83,6$ ед./мл ($p < 0,05$). При этом на II стадии РЛ уровень sCD38-антигена имел лишь тенденцию к снижению, а на III стадии падал в 2,2 раза по сравнению с нормой ($p < 0,02$). При плоскоклеточном ороговевающем РЛ был зарегистри-

рован более низкий сывороточный уровень sCD38-антигена, чем при неороговевшем варианте заболевания.

Оперативное вмешательство в объеме пневмонэктомии и расширенной комбинированной пневмонэктомии сопровождалось повышением содержания sCD38-антигена до уровня контрольной группы, что, по-видимому, являлось следствием устранения основной опухолевой массы и снятия дискоординирующего влияния опухоли на иммунную систему. В неоперабельных случаях уровень sCD38-антигена оставался сниженным и в среднем составлял после выполнения пробных лапаротомий $95,2 \pm 61,2$ ед./мл.

Сывороточная концентрация растворимого CD50 (sCD50) антигена (ICAM-1) сохранялась в пределах нормы, составляя на II стадии $248,3 \pm 98,2$ ед./мл, а на III стадии — $270,6 \pm 191,3$ ед./мл. После оперативного вмешательства содержание sCD50-антигена имело тенденцию к повышению.

Выводы. Полученные нами предварительные данные свидетельствуют, что рак легкого сопровождается изменением сывороточного содержания растворимого CD38-антигена при отсутствии статистически достоверных изменений в концентрации растворимого CD50-антигена.

Т. П. Рябых¹, Т. В. Осипова¹, Е. И. Дементьева²,
Е. Н. Савватеева², Е. В. Коновалова^{2, 3}, А. Соколова¹,
А. Ю. Рубина², А. Ю. Барышников¹, А. С. Заседателев²

Разработка диагностической тест-системы на основе биочипа на простатический специфический антиген (общую и свободную формы)

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

² Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва

Цель исследования. Рак предстательной железы (РПЖ) остается второй по счету причиной смертности у мужчин от онкологических заболеваний. Простатический специфический антиген (ПСА) относится к наиболее эффективным маркерам рака предстательной железы, получившим широкое внедрение в клиническую практику. Применение в диагностике РПЖ двух форм этого антигена — общей и свободной (ПСА_{общ.} и ПСА_{св.}) значительно увеличивает специфичность ПСА-теста. Технология биочипов открывает новые возможности применения этого маркера для скрининга РПЖ. Целью исследования была разработка тест-системы на основе биочипов для диагностики РПЖ с использованием двух форм ПСА.

Материал и методы. Микрочипы на основе гидрогелей с иммобилизованными моноклональными антителами к двум формам ПСА были изготовлены в Центре биочипов ИМБ РАН. Концентрации общей и свободной форм ПСА определяли в сэндвич-варианте иммуноанализа. Флюоресцентные сигналы от вторых антител регистрировали с помощью анализатора биочипов (ИМБ РАН).

Результаты. Тест-система на основе биочипа к двум формам ПСА имела удовлетворительные аналитические характеристики. Калибровочные кривые на ПСА_{общ.} и ПСА_{св.} были хорошо воспроизводимы в различных экспериментах. Коэффициент вариации (КВ) концентраций, соответствующих 50%-му уровню флюоресценции не превышал 4 %. Аналитическая чувствительность тест-системы для ПСА_{общ.} составляла 0,1 нг/мл, для ПСА_{св.} — 0,19 нг/мл. Тест на «открытость» показал, что отличие измеряемой концентрации от расчетной составляло 8–13 % для ПСА_{общ.}. Проверка тест-системы на специфичность показала отсутствие перекрестной реактивности с другими опухолеассоциированными антигенами. Тест-система на основе биочипа была апробирована на клиническом материале, включающем сыворотки онкологических больных и здоровых доноров. Было показано, что уровни ПСА_{общ.} и ПСА_{св.} в сыворотке крови здоровых доноров не превышали общепринятых пороговых уровней — 4 и 1,1 нг/мл соответственно. Коэффициенты корреляции уровней ПСА_{общ.} и ПСА_{св.} в сыворотке крови больных РПЖ, измеренных на биочипе и в тест-системе Roche Diagnostics, составили соответственно 0,998 и 0,996 ($p < 0,001$).

Выводы. Разработан лабораторный вариант новой тест-системы на основе биочипа для одновременного определения двух форм ПСА. В будущем новая тест-система может быть использована для ранней диагностики и скрининга РПЖ в группах высокого риска рака (мужчины старше 50 лет).

М. В. Савостикова

Иммуноцитохимический метод в оценке некоторых факторов прогноза при раке молочной железы

МНИОИ им. П. А. Герцена, Москва

Введение. Достигнуты большие успехи в изучении иммуноцитохимических маркеров, отражающих разные уровни функционирования и биологические свойства опухолевой клетки, особенно при раке молочной железы (РМЖ), дающих возможность определить прогноз течения опухолевого заболевания и предсказать чувствительность новообразования к химиогормональному лечению. Широкое практическое применение нашло иммуноцитохимическое определение рецепторов эстрогенов и прогестерона, экспрессии онкопротеина C-erbB-2 и маркера пролиферативной активности Ki-67 при РМЖ.

Цель исследования. Оценить возможности иммуноцитохимического исследования в оценке некоторых прогностических факторов при раке молочной железы.

Материал и методы. Проведено 345 иммуноцитохимических исследований у 112 больных раком молочной железы. Для изучения факторов прогноза анализировали экспрессию белка пролиферативной активности Ki-67 у 56 больных, онкопротеина C-erbB-2 — у 65, рецепторы эстрогенов и прогестерона — у 112.

Для визуализации реакции антиген-антитело использовали авидин-биотиновую систему и ДАБ (диаминобензидин). Реакция проводилась на цитологических мазках, полученных при центрифугировании материала из специальной среды накопления на системе Cytospin-3. В работе использованы моноклональные антитела (фирма DAKO, Дания) к онкопротеину C-erbB-2 (разведение 1:250–1:350), рецепторам эстрогенов (клон 1D5, разведение 1:35), рецепторам прогестерона (клон 636, разведение 1:50) и белку пролиферативной активности Ki-67 (клон MiB-1, разведение 1:50–1:75). Реакция считалась отрицательной при полном отсутствии или экспрессии антигена менее 5 % опухолевых клеток, слабоположительной — при реакции 5–24 % клеток, умеренно выраженной — 25–74 % клеток, выраженной — более 75 % клеток.

Результаты. При изучении рецепторного статуса рака молочной железы иммуноцитохимическим методом ER выявлены в 43 % случаев, из них слабоположительная реакция — 42 %, умеренно выраженная — 37 %, выраженная — 21 %. Положительная экспрессия рецепторов прогестерона выявлена в 39 % случаев: выраженная реакция — в 12 %, умеренная — в 32 %, слабая — в 56 %. Экспрессия антигена Ki-67, отражающего пролиферативную активность опухоли, наблюдалась в 86 % случаев рака молочной железы. Степень выраженности пролиферативной активности распределена следующим образом: слабоположительная реакция — 56 %, умеренно выраженная — 33 %, выраженная — 11 %. Онкопротейн C-erbB-2 экспрессировался в 57 % случаев: слабоположительная реакция — 22 %, умеренно выраженная — 38 %, выраженная — 40 %.

Выводы. Использование иммуноцитохимического метода позволяет изучить гормональный статус и факторы прогноза при раке молочной железы еще на дооперационном этапе обследования больного.

Д. В. Соколов¹, И. В. Булычева¹, Б. В. Шапков¹,
В. В. Соколов², С. Г. Кузьмин²

Комплексная ранняя диагностика меланомы кожи

¹ Московская городская онкологическая клиническая больница № 62

² ГУП МНЦК «Интермедбиофизхим», Москва

В настоящее время улучшение ранней диагностики меланомы кожи связывают с разработкой компьютерных комплексов на основе микродермоскопии и компьютерной обработки цифровых фотографий кожных новообразований, которые повышают уровень ранней диагностики меланомы с 60 до 90 %.

Целью настоящей работы было создание компьютерного комплекса с использованием микродермоскопии (увеличение до 20 раз), ультрамикродермоскопии (увеличение до 150 раз), флюоресцентной дермоскопии и цифровой компьютерной обработки видеозаписей кожной поверхности пациента и ее отдельных участков. Разработана методика осмотра пациента, набора клинического материала с помощью цифровой фотоаппаратуры для получения высококачественных фотоизображений пигментных новообразований кожи, рас-

познавания и архивирования полученного клинического материала для длительного наблюдения за пациентами из группы риска. Сформирована электронная база данных, включающая цифровые фотографии и гистологические срезы удаленного новообразования в цифровом формате.

С 2004 г. комплексное обследование было проведено 36 пациентам. Использование разработанной методики комплексного обследования позволило поставить диагноз меланомы с чувствительностью 83 % и специфичностью 70 %. Ранее при установлении диагноза меланомы только по данным клинического осмотра чувствительность составляла 33 %, специфичность — 40 %.

Таким образом, разработанный комплекс ранней диагностики меланомы имеет перспективы для использования в онкологической практике.

И. А. Файнштейн, Е. В. Степанова, И. Н. Соколова, А. Ю. Барышников

Экспрессия молекулярно-биологических маркеров при раке головки поджелудочной железы

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

Введение. Аденокарциномы поджелудочной железы относятся к группе опухолей плохого прогноза с 5-летней выживаемостью менее 3 %. В настоящее время только полная хирургическая резекция рака поджелудочной железы (РПЖЖ) является оптимальным лечением, химио- или лучевая терапия малоэффективна. Актуальность

поисков дополнительных критериев злокачественности опухолей и прогностических факторов несомненна.

Материал и методы. В исследование вошло 20 больных (12 мужчин и 8 женщин) аденокарциномой головки поджелудочной железы, проходившие лечение в РОНЦ. Средний возраст больных составил 58 ± 5 лет. Всем больным была выполнена радикальная ГПДР. Проведено иммуногистохимическое исследование маркеров апоптоза (p53, Bcl-2, Bax), ангиогенеза (ТФ, Cox) HER-2/neu и Ki-67.

Результаты. Накопление p53 наблюдалось в 35 % случаев РПЖЖ. Экспрессия p53 чаще встречалась при T₄ стадии (60 %), чем при T₃ (35,7 %). Экспрессия маркеров апоптоза Bcl-2 и Bax наблюдалась в 25 и 35 % случаев соответственно. Гиперэкспрессия HER-2/neu (2+ и 3+) обнаружена у 25 % больных РПЖЖ. Отмечалась высокая экспрессия ангиогенных факторов в аденокарциномах ПЖЖ: экспрессия ТФ в 75 % случаев и ЦОГ-2 — в 35 %. Высокая пролиферативная активность опухоли (индекс Ki-67 более 10 %) отмечена в 55 % случаев, низкая — в 45 %. Среди молекулярно-биологических маркеров только экспрессия Bcl-2 показала прогностическую значимость. Ни один из Bcl-2 отрицательных больных не прожил более года, тогда как среди положительных случаев таких больных оказалось 50 %.

Выводы. Изучение молекулярно-биологических маркеров при РПЖЖ может помочь определить тактику лечения. Экспрессия Bcl-2 при РПЖЖ, мы предполагаем, может ассоциироваться с неблагоприятным прогнозом течения заболевания.

ХИМИОТЕРАПИЯ

М. А. Барышникова, О. Л. Орлова, А. П. Полозкова, И. С. Голубева, Н. П. Яворская, Н. А. Оборотова, Л. И. Смирнова, С. А. Партолина

Разработка лекарственной формы амиронина для перорального применения

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

Алкилирующие агенты находят наиболее широкое практическое применение среди различных групп синтетических химических соединений. В соответствии с теорией о целесообразности применения производных аминокислот как потенциальных антиметаболитов аминокислотного обмена злокачественных опухолей в ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина синтезирована субстанция амиронина в виде основания, эфира и кислоты. В биологических экспериментах было показано, что амиронин в виде кислоты наиболее активен и менее токсичен. Амиронин представляет собой D,L- α -амино- β -[n-[n-бис(β-хлорэтил)аминофенокси]фенил]пропионовой кислоты гидрохлорид. Тионинная структура носителя алкилирующей группы придает препарату направленность на щитовидную железу и опухоли, исходящие из нее.

Поскольку амиронин практически не растворим ни в воде, ни в маслах, наиболее рациональной для него является лекарственная форма для перорального применения в виде таблеток. При разработке таблеток амиронина изучены технологические характеристики субстанции амиронина, которые предопределили вид прессования, необходимость введения дополнительных ингредиентов, обеспечивающих возможность процесса таблетирования и высокое (соответствующее требованиям ГФ) качество полученных таблеток (распадаемость, прочность и др.). Для коррекции технологических характеристик субстанции амиронина массу для таблетирования получали методом влажной грануляции. В присутствии влаги хлорэтиламины гидролизуются, поэтому наряду со вспомогательными веществами, необходимыми для улучшения текучести, коррекции сыпной массы и исключения залипаемости на прессующий инструмент, в таблетлируемую массу введен стабилизатор — натрия хлорид. Наибольшую сложность представляла коррекция распадаемости таблеток. Все исследуемые модели таблеток набухали, но не распадались. Введение разрыхлителя аэросила позволило получить таблетки, соответствующие требованию ГФ по тесту «распадаемость».

Таким образом, в ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН разработана лекарственная форма труднорастворимого хлорэтиламина амиронина в виде таблеток для перорального применения, которая в настоящее время проходит предклиническое изучение.

Т. А. Бозуш, А. Б. Равчеева, А. В. Конухова, К. Е. Кузьмина, В. Ю. Кирсанов, А. Ю. Барышников

Дифференцированная оценка функциональной активности ABC-транспортеров, контролирующих внутриклеточное распределение противоопухолевых препаратов, методом проточной цитофлюориметрии

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

Введение. Разработка методов оценки прогностически значимых опухолевых маркеров — одна из проблем, чрезвычайно важных для решения как фундаментальных, так и клинических задач онкологии.

Цель исследования. Разработка подхода к дифференцированной оценке функциональной активности ABC-транспортеров, маркеров множественной лекарственной резистентности (MDR), контролирующих накопление MDR-цитостатиков не только в цитоплазме, но и в ядре. Последнее наиболее важно, т. к. является определяющим в реализации специфической активности большинства противоопухолевых препаратов.

Материал и методы. Объектом исследования явились культуры клеток разных линий, а также опухолевые клетки, полученные из хирургического биопсийного материала опухолей человека с разным фенотипом MDR. Внутриклеточную флюоресценцию доксорубина (Док) оценивали методом проточной цитофлюориметрии (ПЦФ).

Результаты. Впервые описаны разнонаправленные изменения внутриклеточной флюоресценции Док при увеличении его внутриклеточного накопления под воздействием специфических ингибиторов активности ABC-транспортеров (верапамила и генистеина) — увеличение или уменьшение показателя. Учитывая характерное для антрациклинов тушение флюоресценции при связывании с ДНК, сделано заключение, что уменьшение внутриклеточной флюоресценции Док в условиях его повышенного накопления в клетке означает увеличение накопления препарата в ядре, тогда как повышение внутриклеточной флюоресценции Док свидетельствует об увеличении цитоплазматической аккумуляции препарата.