25. *Kleer C., van Golen K.L., Braun T., Merajver S.D.* Persistent E-cadherin expression in inflammatory breast cancer // Mod. Pathol. – 2001. – Vol. 14. – P. 458–64.
26. *Kuerer H.M., Newman L.A., Smith T.L. et al.* Clinical course of breast cancer patients with complete pathologic primary tumor and axillary lymph node response to doxorubicin-based neoadjuvant chemotherapy // J. Clin. Oncol. – 1999. – Vol. 17. – P. 460–9.
27. *Lee B.J., Tannenbaum N.E.* Inflammatory carcinoma of the breast: a report of twenty-eight cases from the breast clinic of Memorial Hospital // Surg Gynecol Obstet. – 1924. – Vol. 39. – P. 580–95.
28. *Lerebours F., Bertheau P., Bieche I. et al.* Two prognostic groups of inflammatory breast cancer have distinct genotypes // Clin Cancer Res. – 2003. – Vol. 9. – P. 4184–9.
29. *Liauw S.L., Benda R.K., Morris C.G. et al.* Inflammatory breast carcinoma: Outcomes with trimodality therapy for nonmetastatic disease // Cancer. – 2004. – Vol. 100(5). – P. 920–8.
30. *Low J.A., Berman A.W., Steinberg S.M. et al.* Long-term follow-up for inflammatory (IBC) and non-inflammatory (NIBC) stage III breast cancer patients treated with combination chemotherapy // Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. – 2002. – Vol. 21. – 63a.
31. *Palangie T., Mosseri V., Mihura J. et al.* Prognostic factors in inflammatory breast cancer and therapeutic implications // Eur. J. Cancer. – 1994. – Vol. 7. – P. 921–7.
32. *Panades M., Olivotto I.A., Speers C.H. et al.* Evolving treatment strategies for inflammatory breast cancer: a population-based survival analysis // J. Clin. Oncol. – 2005. – Vol. 23. – P. 1941–50.
33. *Paradiso A., Tommasi S., Brandi M. et al.* Cell kinetics and hormonal receptor status in inflammatory breast carcinoma. Comparison with locally advanced disease // Cancer. – 1989. – Vol. 64. – P. 1922–7.
34. *Piera J.M., Alonso M.C., Ojeda M.B., Biete A.* Locally advanced breast cancer with inflammatory component: a clinical entity with a poor prognosis // Radiother. Oncol. – 1986. – Vol. 7. – P. 199–204.
35. *Turpin E., Bieche I., Bertheau P. et al.* Increased incidence of ERBB2 overexpression and TP53 mutation in inflammatory breast cancer // Oncogene. – 2002. – Vol. 21. – P. 7593–7.
36. *Ueno N.T., Buzdar A.U., Singletary S.E. et al.* Combined-modality treatment of inflammatory breast carcinoma: twenty years of experience at M.D. Anderson Cancer Center // Cancer Chemother. Pharmacol. – 1997. – Vol. 40. – P. 321–9.

Е.В. Лукашева[1], О.С. Жукова[2], А.Ю. Аринбасарова[3], А.Г. Меденцев[3], К.В. Макрушин[3], Е.М. Трещалина[2], А.Ю. Барышников[2], Т.Т. Березов[1]

ПОЛУЧЕНИЕ КОНЪЮГАТОВ L-ЛИЗИН- -ОКСИДАЗЫ С АНТИТЕЛАМИ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ

[1]ГОУ ВПО РУДН, Москва
[2]РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН, Москва
[3]ИБФМ им. Г.К.Скрябина РАН, Пущино-на-Оке

Цель исследования. Разработка путей иммобилизации и направленного транспорта *L*-лизин- -оксидазы (ЛО).

Материалы и методы. Ферментативную активность ЛО определяли по скорости накопления H_2O_2 в реакции окислительного дезаминирования L-лизина с помощью пероксидазы и ее хромогенного субстрата о-дианизидина. Методами химической модификации молекулы ЛО периодатом натрия ($NaIO_4$), пероксидазой (ПХ) или глутаровым альдегидом (ГА), получали функционально активные группы для связывания с антителами (АТ). Далее осуществляли реакцию с АТ или с моноклональными антителами (МКА) ICO-80 к рецептору CD5 на клетках линии Yurkat. Об эффективности коньюгации судили по ферментативной активности (ФА) и цитотоксичности.

Цитотоксичность определяли при концентрации агента 5 10^{-5} Е/мл с помощью МТТ-теста на клеточных линиях CaOv или Yurkat через 48 ч по проценту ингибирования = число погибших клеток/число метаболически активных клеток.

Результаты. Конъюгаты ЛО-ПХ показали ФА=0,36–1,2 % от исходной, цитотоксичность на CaOv составила 24 % против 36,7 % для ЛО. Предобработка фермента $NaIO_4$ с удалением агента и реакцией с АТ приводила к увеличению ФА до 5 % при снижении цитотоксичности до 9,9 %.

Получение «мостиковой» молекулы, несущей на поверхности центры для ковалентного связывания с аминогруппами как ЛО, так и АТ, привело к увеличению ФА до 80 %. Роль такого «мостика» выполнила окисленная по углеводному компоненту $NaIO_4$ пероксидаза (ПХ) с альдегидными группами на поверхности.

Однако цитотоксичность конъюгатов ЛО-ПХ-АТ все же не достигла ЛО и составила 19 %.

Использование ГА для получения конъюгата с МКА ICO-80 привело к ФА=65 % без изменения специфичности связывания с рецепторами на Yurkat при цитотоксичности коньюгата на уровне ЛО.

Вывод. Использование ГА для создания «мостика» между молекулой ЛО и АТ позволяет получить коньюгат с высокой ФА без выигрыша по цитотоксичности.

Разработанный метод конъюгации может быть использован для создания нового поколения лекарственных средств направленного транспорта в организме.