

199. Терапевтический эффект оценивали по торможению роста опухоли (ТРО,%).

Результаты. С целью прогнозирования эффективности эстразина в клинике была использована аденокарцинома R3327-Н, которая является адекватной моделью аденокарциномы предстательной железы человека и содержит рецепторы эстрогенов ($12,1 \pm 1,3$ фмоль/мг белка) и андрогенов ($39,7 \pm 1,7$ фмоль/мг белка). На R3327-Н эстразин в дозе 100 мг/кг при введении в течение 5 дней на 8 неделе опыта проявил статистически значимый терапевтический эффект (ТРО=64%). Постепенно терапевтический эффект эстразина нарастал и к 17 неделе опыта составлял 88% ТРО. Противоопухолевый эффект эстрацита во время его введения был несколько выше действия эстразина. Однако максимальный терапевтический эффект этого препарата был выявлен на 17 неделе опыта и составлял 70% торможения роста опухоли, который статистически был ниже действия эстразина. Кастрация приво-

дила к торможению роста R3327-Н уже через 2 недели после хирургического вмешательства. Торможение роста опухоли после кастрации на всем протяжении опыта составляло 63-76%.

Кроме того показано, что эстразин оказывал пограничный противоопухолевый эффект в отношении низкодифференцированного гормоннезависимого рака предстательной железы R3327-MATLyLu (ТРО=43%), тогда как эстрацит тормозил рост этой опухоли только на 20%.

Заключение. Таким образом, результаты настоящего исследования показывают, что эстразин обладает отсроченным и пролонгированным противоопухолевым действием на гормонзависимой аденокарциноме предстательной железы R3327-Н. По терапевтическому эффекту на R3327-Н эстразин превосходит действие эстрогеноцитостатика эстрацит и кастрации. Эти данные позволяют рекомендовать его для лечения гормонзависимой аденокарциномы предстательной железы человека.

СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ФРАГМЕНТОВ СИГНАЛЬНОГО БЕЛКА GRB-2

*Л.И. Смирнова, А.П. Смирнова, С.В. Устинкина, Н.К. Власенкова, Г.К. Герасимова
Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН*

Успехи фундаментальной медико-биологической науки в изучении механизма злокачественной трансформации клеток открыли новые мишени воздействия потенциальных противоопухолевых средств. Данные о важной роли белка Grb-2 в запуске так называемых Ras-зависимых сигнальных путей, связанных с активацией протоонкогенов, послужили основанием для настоящей работы.

Белок Grb-2 способен к высокоаффинному связыванию с фосфотирозиновыми участками рецепторов, специфичность которого определяется небольшой последовательностью аминокислотных остатков. Генетические исследования показали, что направленные мутации доменов Grb-2 белка или фосфотирозиновых участков их лигандов могут ослабить или полностью блокировать Ras-зависимые сигнальные пути в опухолевых клетках.

В этой связи кажется возможной блокада передачи сигнала от рецептора к Ras-белку с помощью коротких олигопептидов.

Проанализировав литературные данные о взаимодействии белка Grb-2 с фосфотирозиновыми участками рецепторов, мы остановили свой выбор на фрагменте b,b-цепи аминокислотной последовательности SH2 домена Grb-2, содержащей 7 аминокислот.

Модификация этого фрагмента предполагала замену аминокислот по принципу их комплиментарности, а с целью увеличения ферментативной устойчивости пептида замену L-фенилаланина в положении 2 на неприродную аминокислоту D-фенилаланина.

В целом классическими методами пептидной химии синтезировано и охарактеризовано 11 коротких пептидов, содержащих от 3-х до 7-ми аминокислот. Цитотоксические свойства синтезированных соединений были изучены в РОНЦ РАМН на культурах клеток меланомы человека линии MS и рака яичника CaOv. Было показано, что гептапептиды - это наименьшая аминокислотная последовательность, которая привела к появлению цитотоксичности.

Эти наблюдения, а также литературные данные о взаимодействии положительно заряженных групп фрагментов сигнального белка Grb-2 с отрицательно заряженными фосфатными группами участков рецепторов являются предпосылками для продолжения поиска.

Предполагается модификация исследуемого фрагмента за счет дополнительного введения в него аминокислот основного характера аргинина и лизина и при необходимости удлинения аминокислотной последовательности.

ПРОЛОНГИРОВАННАЯ И МНОГОКУРСОВАЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ.

*В.В. Соколов, В.И. Чиссов, Е.В. Филоненко, Д.Г. Сухин, Е.С. Карпова,
Л.В. Телегина, Р.И. Якубовская*

Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена.

В МНИОИ им. П.А. Герцена в 1993 году были начаты исследования по разработке и клиническому применению методов пролонгированной (ПрФДТ) и многокурсовой (МкФДТ) ФДТ. ПрФДТ предполагает однократное введе-

ние фотосенсибилизатора и фракционирование световой дозы с ежедневным повторением сеансов ФДТ в течение 7-10 и более дней. Целью многократного низкодозного светового воздействия является усиление апоптоза, селектив-

ной резорбции и деструкции как поверхностно расположенной, так и интрамуральной части опухоли при минимальных повреждениях окружающей нормальной ткани. Основным условием для ПрФДТ является использование фотосенсибилизатора, способного длительно удерживаться в опухолевой ткани (фотосенс). В течение последних двух лет для потенцирования ПрФДТ используется ИК лазер-индуцированная термотерапия. С использованием данных методик, проведено лечение 161 больного (480 опухолей) с множественным опухолевым поражением кожи (базальноклеточный рак с поражением всех слоев дермы – 73 пациента; плоскоклеточный рак – 3; метастатическое поражение кожи – 85 (метастазы меланомы – 21, метастазы рака молочной железы – 64). Полная регрессия получена при ПрФДТ базальноклеточного рака кожи в 68% наблюдений, метастазах меланомы – в 42%, метастазах рака молочной железы – в 21%, частичная регрессия – в 22%, в 28% и в 48% соответственно. Срок наблюдения от 1 до 7 лет.

При МкФДТ введение фотосенсибилизатора и сеанс светового воздействия повторяются с интервалом от 1 недели до 3 месяцев в зависимости от типа препарата и выраженности терапевтического эффекта предшествующего курса ФДТ. Цель МкФДТ: у больных с ранней и малой опухолевой патологией – полная регрессия; у инкурабельных больных с распространенными опухолями – частичная деструкция опухоли, стимуляция апоптоза и ряда факторов

противоопухолевого иммунитета, которые могут приводить к стабилизации опухолевого процесса. Для МкФДТ используются преимущественно фотосенсибилизаторы, которые быстро метаболизируются и выводятся из организма (фотогем, протопорфирин IX, радахлорин). При применении МкФДТ в группе больных с остаточной опухолью после первого курса ФДТ рака I ст. (44 пациента с опухолями головы и шеи (7), бронхов (3), пищеварительного тракта (32), свода влагалища (2)) удалось добиться полной регрессии у 39% пациентов (срок наблюдения от 1 до 9 лет); при использовании адьювантной МкФДТ (33 больных раком мочевого пузыря) удалось достичь удлинения сроков безрецидивного периода у всех пациентов; в группе больных с местно-распространенными опухолями (13 больных раком пищевода) применение МкФДТ привело к стабилизации опухолевого процесса и улучшению качества жизни.

Наши исследования и многолетние наблюдения за больными не выявили усиления или появления токсических реакций, связанных с многократным введением фотосенсибилизатора, либо с продолжительным световым воздействием на опухоль и окружающие ткани. Таким образом, полученные результаты ФДТ с использованием указанных методик показывают целесообразность продолжения их дальнейшей разработки и клинического применения.

ВЫСОКОАФФИННЫЕ A_1 -АДРЕНОРЕЦЕПТОРЫ (A_1 -AR) – МОЛЕКУЛЯРНАЯ МИШЕНЬ СПЕЦИФИЧЕСКОГО СВЯЗЫВАНИЯ ТЕРАФТАЛА

Т.И. Солнцева, Т.А. Сидорова, Г.К. Герасимова.

Российский онкологический научный центр РАМН им. Н.Н. Блохина

Исследование фармакологических свойств терафтал-натриевой соли окси-4,5 карбокси фталоцианина $Co^{+2}(T)$ в эксперименте и клинике выявило наряду с его противоопухолевым эффектом ряд дополнительных свойств и, в частности, гипотензивное действие. Это позволило нам предположить, что эффект терафтал реализуется в клетке через рецепторы нейромедиаторов плазматической мембраны путем вмешательства в регуляцию сигнальных путей и внутриклеточный метаболизм. Для проверки данной гипотезы было необходимо идентифицировать на мембране клеток терафтал-связывающие сайты, определить их кинетические параметры и доказать возможную принадлежность этих сайтов к одному из классов природных рецепторов нейромедиаторов: α -AR, β -AR, m -холино-R ($mAChR$).

Материалы. В работе была использована культура клеток гепатомы крысы McARA7777. Терафтал-лио (ФГУП "ГНЦ "НИОПИК", РОНЦ РАМН); DL-пропранолол (Pro), празозин (Pz), хинуклидинилбензилат (QNB) – специфические блокаторы (b_1 - b_2)AR; α_1 -AR и $mAChR$, соответственно. 3H -терафтал (0,4мК/мг); 3H -дигидроальprenолол (3H -DNA, 70 К/ммоль); 3H -Pz (30К/ммоль); 3H -QNB (12,3 К/ммоль).

Методы. Кинетические параметры связывания терафтал с плазматической мембраной опухолевых клеток определяли радиолигандным методом по конкуренции меченого и холодного терафтал. Константу диссоциации (K_d) и максимальное число рецепторов на клетку (B_{max}) рассчитывали по методу Скэтчарда, исходя из предположения, что один рецептор связывает 1 молекулу лиганда. О наличии общих мест связывания терафтал и нейромедиаторов судили по отсутствию аддитивности при их совместном

добавлении к клеткам.

Результаты. На поверхности клеток гепатомы обнаружено несколько популяций терафтал-связывающих сайтов, характеризующихся значениями K_d и B_{max} в диапазонах:

$K_d = (5 \times 10^{-9} - 2 \times 10^{-6})M$ и $B_{max} = (2 - 20) \times 10^5$ мест/клетку. По конкуренции 3H -терафтал с холодными лигандами-нейроблокаторами и отсутствию аддитивности в их связывании установлено, что эти места одновременно являются местами связывания адренергических и мускариновых холинергических блокаторов, а сродство этих сайтов к терафталу, Pz, Pro и QNB примерно одинаково. Показано, что терафтал в условиях насыщения мечеными лигандами высокоаффинных адренергических и холинергических рецепторов конкурирует только с 3H -Pz (не уступая последнему в сродстве к α_1 -AR). Кинетические характеристики связывания терафтал и Pz следующие:

$2 \times 10^{-11}M < K_d \text{ Pz} \sim K_d \text{ T} \leq 2 \times 10^{-10}M$;
 9×10^3 мест/клетку $< B_{max} \leq 25 \times 10^3$ мест/клетку.

Выводы. 1. Специфическими высокоаффинными сайтами связывания терафтал с поверхностью клеток гепатомы 7777 являются природные α_1 -AR со следующими характеристиками:

$2 \times 10^{-11}M < K_d \text{ Pz} \sim K_d \text{ T} \leq 2 \times 10^{-10}M$;
 9×10^3 мест/клетку $< B_{max} \leq 25 \times 10^3$ мест/клетку.

2. Места связывания терафтал с K_d в диапазоне $(5 \times 10^{-9} - 2 \times 10^{-6})M$ лишены избирательности в отношении специфических блокаторов α_1 -AR, (b_1 - b_2)AR и $mAChR$ и связывают их с тем же сродством, что и терафтал.

Работа поддержана грантом Правительства г.Москвы