

- действии повреждающих факторов. Автореф. дис. ... д-ра хим. наук. – М., 2003. – 45 с.
5. Шишкина Л.Н., Кушнирева Е.В., Смотряева М.А. Новые подходы к оценке биологических последствий воздействия радиации в малых дозах // Радац. Биология. Радиоэкология. – 2004. – Т. 44, № 3. – С. 289-295.
  6. Сторожок С.А., Санников А.Г., Захаров Ю.М. Молекулярная структура мембран эритроцитов и их механические свойства. Тюмень: Изд-во Тюменского гос. ун-та. – 1997. – 140 с.

## **АКТИВНОСТЬ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ В ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЕ РАКОВОЙ ТКАНИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПАЦИЕНТКИ – ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ ПОКАЗАТЕЛЬ РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМА НА ПОЛИХИМИОТЕРАПИЮ**

**Шуканова Н.А.<sup>1</sup>, Мартынова М.А.<sup>1</sup>, Бушмакина И.М.<sup>1</sup>,  
Молчан М.М.<sup>1</sup>, Козловская Н.А.<sup>2</sup>, Шаповал Е.В.<sup>2</sup>**

*<sup>1</sup>ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,  
Минск, Беларусь*

*<sup>2</sup>ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии  
им. Н.Н. Александрова», МЗ РБ, Минск, Беларусь*

Злокачественные опухоли молочной железы имеют существенные различия в морфологическом строении, рецепторном статусе и молекулярно-генетических признаках. В зависимости от наличия или отсутствия рецепторов эстрогенов (ER), прогестерона (PR) и гена *HER2*, кодирующего белок – рецептор человеческого эпидермального фактора роста 2 типа (Her-2/neu), в клиниках определяют 4 основных молекулярно-генетических подтипа рака молочной железы (РМЖ): люминальный А, люминальный Б, Her2-положительный и базально-подобный или трижды-негативный. Однако сходные по гистологическому строению опухоли нередко имеют различную химиочувствительность, поэтому индивидуализация химиотерапии онкологических пациентов в настоящее время является крайне актуальной задачей. В настоящее время в мире интенсивно ведутся исследования по изучению роли ацетилхолинэстеразы (АХЭ) в процессах онкогенеза, которая участвует в клеточной пролиферации, дифференцировке, адгезии и апоптозе злокачественных клеток опухолей различной этиологии.

В данной работе методами мануального обследования, маммографии и ультразвукового исследования (УЗИ) оценивали степень регрессии злокачественно трансформированной молочной железы после проведения неoadьювантной полихимиотерапии (НПХТ) и сравнивали полученные клинические показатели с чувствительностью клеток РМЖ в первичной культуре из биоптатов железы пациентки к назначенным химиопрепаратам до начала терапии.

Первичную культуру получали из трепан-биоптатов опухоли молочной железы пациенток с первично верифицированным диагнозом РМЖ. Образцы помещали в суховоздушный CO<sub>2</sub>-инкубатор HERAcell 150 и культивировали во влажной атмосфере, содержащей 5 % CO<sub>2</sub>, при 37 °C в течение 48 ч. Культивирование клеток в условиях *in vitro* проводили в отсутствие и в присутствии противоопухолевых лекарственных средств, которые были в дальнейшем использованы при НПХТ пациенток. Лекарственные средства вносили в первичную культуру клеток РМЖ в концентрациях, соответствующих клинически значимым дозам, применяемым в онкологической практике.

Концентрацию белка [C<sub>б</sub>] в суспензии клеток оценивали по стандартному методу Лоури.

Активность АХЭ определяли стандартным методом с использованием реактива Элмана. Измерение активности АХЭ во всех образцах проводилось в одинаковом временном интервале, в котором оптическая плотность в клеточной суспензии линейно зависела от количества гидролизованного субстрата, поэтому процедуру пересчета активности фермента в абсолютных единицах (нмоль/мг белка в мин) упростили до оценки увеличения оптической плотности в минуту в пересчете на 1 мг белка:  $A_k = \Delta D_k / [C_b] \cdot t$  для образцов, культивируемых без химиопрепаратов, и  $A_x = \Delta D_x / [C_b] \cdot t$  для образцов, культивируемых в присутствии назначенных пациентке химиопрепаратов, где  $t$  – время измерения оптической плотности в процессе гидролиза в минутах. При отношении  $A_x/A_k < 1$  наблюдалось ингибирование активности АХЭ в результате действия химиопрепаратов. При отношении  $A_x/A_k \geq 1$  химиопрепараты или не влияли на опухолевые клетки в первичной культуре, или усиливали клеточную пролиферацию.

Нами были сопоставлены данные по чувствительности опухолевых клеток к химиопрепаратам в условиях *in vitro* до назначения НПХТ ( $A_x/A_k$ ) пациенткам с РМЖ (46 человек) и результаты посттерапевтического клинического обследования этих же больных. Совпадение предварительного прогноза по значению  $A_x/A_k$  и степени регрессии опухоли после НПХТ составило при мануальном обследовании 75 %, при рентге-

нологическом – 67 % и УЗИ – 60 %. Оценка степени регрессии после НПХТ в клинике не всегда однозначна для разных методов обследования. Например, для отдельной пациентки с Her2-позитивным подтипом РМЖ мануальное обследование свидетельствовало о полном отсутствии регрессии после НПХТ, маммография – о 63 % регрессии, а УЗИ – о регрессии в 81 %. Результаты обследования пациенток с наиболее агрессивным трижды-негативным подтипом РМЖ представлены в таблице.

Таким образом, разработанный нами метод определения чувствительности клеток РМЖ в первичной культуре к химиопрепаратам [1] позволяет дополнительно оценить вероятную регрессию опухоли молочной железы отдельной пациентки после НПХТ.

Таблица – Показатели чувствительности клеток РМЖ к химиопрепаратам в первичной культуре  $A_x/A_k$  и данные клинического обследования пациенток с трижды-негативным подтипом опухоли после НПХТ

№	$A_x/A_k$	Мануальное обследование (%)	УЗИ (%)	Маммография (%)
1	0,53	60	89	92
2	0,85	57	0	71
3	0,50	62	68	68
4	1,24	38	71	50
5	0,28	0	93	67
6	0,18	100	83	100
7	0,67	56	рост на 9 %	рост на 30 %
8	1,57	40	63	0
9	0,52	40	66	64
10	0,02	20	22	13
11	0,28	28	34	0
12	0,27	20	100	0
13	0,41	40	90	100
14	0,46	рост на 20 %	рост в 3,5 р	10
15	0,65	0	0	0
16	0,68	40	82	–
17	0,27	100	88	41
18	0,60	43	89	рост в 7,3 р
Совпадение (%)		83	83	65

## Литература

1. Способ определения у большого чувствительности клеток рака молочной железы к химиопрепарату или к группе химиопрепаратов / Н.А. Шуканова [и др.] // Патент № 17447С2; G01N 33/48. – Официальный бюллетень «Изобретения. Полезные модели. Промышленные образцы». – 2013. – № 4 (93). – С. 164.

## АНТИОКСИДАНТНОЕ И АНТИРАДИКАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ДИНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА

**Шумаев К.Б.<sup>1,2</sup>, Дудылина А.Л.<sup>1</sup>, Пугаченко И.С.<sup>2</sup>, Гречникова М.А.<sup>2</sup>,  
Космачевская О.В.<sup>1</sup>, Топунов А.Ф.<sup>1</sup>, Ванин А.Ф.<sup>3</sup>, Рууге Э.К.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Институт биохимии им. А.Н. Баха «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», Москва, Россия*

<sup>2</sup>*ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздрава России, Москва, Москва, Россия*

<sup>3</sup>*Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва, Россия*

Динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) являются одними из важнейших физиологических производных оксида азота (NO). Эти комплексы являются вазодилататорами, участвуют в транспорте NO и редокс-регуляции метаболизма различных организмов [1, 2]. В живых системах лигандами ДНКЖ чаще всего являются SH-группы тиолов [1]. Вместе с тем, особый интерес представляет изучение антиоксидантного действия ДНКЖ, которое может определять их протекторные свойства.

С помощью ЭПР-спектроскопии спиновых ловушек исследовали влияние ДНКЖ с глутатионовыми лигандами (формула:  $(RS)_2Fe(NO)_2$ ) на продукцию супероксидных радикалов в изолированных митохондриях сердец крыс. В качестве спиновой ловушки использовали *TIRON* [3].

Показано, что при нормоксии (~21 % O<sub>2</sub>) скорость образования свободных радикалов (семихинонов) *TIRON* существенным образом зависит от концентрации ДНКЖ в суспензии митохондрий (рисунок 1). В концентрации  $\geq 1$  мМ эти комплексы вызывали практически полное исчезновение сигнала ЭПР семихинона *TIRON*. Нужно отметить, что для спиновой ловушки *TIRON* характерна высокая константа скорости взаимодействия с супероксидными радикалами [3]. Таким образом, исследуемые ДНКЖ должны иметь сравнимую или даже более высокую константу