

НАУКОВО-ПРАКТИЧНА КОНФЕРЕНЦІЯ
«МІНІМАЛЬНА ЗАЛИШКОВА ХВОРОБА ПРИ СОЛІДНИХ ПУХЛИНАХ»

22–23 жовтня 2015 р., Київ

МОДИФІКАЦІЯ ФЕНОТИПУ ЗЛОЯКІСНО
ТРАНСФОРМОВАНИХ КЛІТИН ШЛЯХОМ
МОДУЛЯЦІЇ КЛІТИННОГО МІКРООТОЧЕННЯ

Н.О. Безденежних, Н.І. Семесюк, О.О. Лихова, І.М. Адаменко,
Р.А. Охріменко, Ю.Й. Кудрявець

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ
beznaia@mail.ru

Вступ. Пухлинний ріст, розвиток метастазів і перебіг пухлинного процесу в цілому визначаються не тільки поведінковими властивостями пухлинних клітин, але й їхнім мікрооточенням: клітинними та розчинними компонентами, у тому числі позаклітинним матриксом. Мікрооточення злоякісно трансформованих клітин є ключовим фактором модифікації їхнього фенотипу, зокрема активізації в них програми епітеліально-мезенхімального переходу (ЕМП), яка забезпечує здатність інфільтрувати навколишні тканини і метастазувати у віддалені ділянки тіла. Можна припустити, що активність процесу ЕМП у пухлинних клітинах впливає на їхню чутливість до протипухлинних агентів.

Мета: оцінити вплив модифікації екстраклітинного матриксу *in vitro* на фенотипові властивості пухлинних клітин, що характеризують їхню злоякісність і чутливість до протипухлинних препаратів.

Об'єкт і методи: культура клітин, цитологічні, імунологічні, статистичні.

Результати. Досліджено чутливість клітин ліній людини з різним ЕМП-статусом, а саме: з епітеліальним фенотипом (Е) — Т47D (рак молочної залози), мезенхімальним (М) — COLO-205 (рак кишечнику) та «змішаним» (Е + М) — А-549 (рак легень), — до протипухлинних препаратів різного механізму дії в умовах культивування клітин на різному субстраті з метою модуляції їх ростових та адгезивних властивостей. Зокрема, досліджували життєздатність клітин після дії хіміопрепаратів та експресію в них маркерів, асоційованих з ЕМП (Е-кадгерин, β -катенін, віментин). Встановлено, що за умов використання як екстраклітинного матриксу колагенового покриття пухлинні клітини ставали більш чутливими до дії антиметаболіту флуороурацилу (Т47D на 26%, COLO-205 — на 12,5%; $p < 0,05$). При дії алкалоїду барвінка (вінорельбін) за умов підвищеної адгезії життєздатність клітин з «Е» фенотипом достовірно знижувалася до 30% ($p < 0,05$) порівняно з контролем; одночасно це супроводжувалося збільшенням кількості Е-кадгеринпозитивних клітин (до 50%; $p < 0,01$). Тенденцію до зниження клітинної життєздатності за умов використання колагенового субстрату відзначали і в клітинах COLO-205 при дії іринотекану та доксорубіцину (до 20%). Разом із тим умови низької адгезивності клітин з «Е» та «М» фенотипом (виращування у сферодах) спричиняли зниження клітинної чутливості до протипухлинних чинників, що асоціювалося зі зменшенням кількості Е-кадгерин- та β -катенінпозитивних клітин. При цьому оцінка чутливості пухлинних клітин А-549 із фенотипом «Е + М» продемонструвала тенденцію до незначного підвищення чутливості клітин (близько 10–15%) до доксорубіцину та іринотекану за умов зниженої адгезії, але колагеновий субстрат не впливав на їхню чутливість та імунофенотип; при зниженій адгезії зменшувалася лише кількість віментинпозитивних клітин (до 20–30%).

Висновки. Отримані дані свідчать про тісний зв'язок між чутливістю злоякісно трансформованих клітин із різним ЕМП-статусом та їхньою реакцією на компоненти екстраклітинного матриксу. Встановлено, що компоненти екстраклітинного матриксу не тільки впливають на адгезивні властивості клітин та їх життєздатність, але й модулюють експресію маркерів ЕМП. Це вказує на доціль-

ність комплексного дослідження фенотипових особливостей пухлинних клітин за умов впливу стромальних елементів і розчинних факторів мікрооточення, включаючи компоненти позаклітинного матриксу та цитокіни.

ФОСФОЛІПІДИ СИРОВАТКИ КРОВІ ТА РІВЕНЬ
ГІПОКСІЇ ПУХЛИНИ У ХВОРИХ НА РАК
ШЛУНКА: ЗВ'ЯЗОК З ДИСЕМІНАЦІЄЮ
ПУХЛИННИХ КЛІТИН

Л.М. Бубновська¹, В.М. Михайленко¹, А.В. Ковельська¹,
Д.С. Осинський², С.П. Меренцев², В.В. Трачевський²,
С.П. Осинський²

¹Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького НАН України

²Київський міський клінічний онкологічний центр

³Інститут металофізики ім. Г.В. Курдюма НАН України, Київ
kovelskaya@ukr.net

Вступ. Фосфоліпіди (ФЛ) як важливі компоненти клітинних мембран залучені в процеси, тісно пов'язані з клітинною проліферацією, злоякісною трансформацією, метастазуванням, загибеллю клітин та їх чутливістю до терапії. Знижений рівень оксигенації в пухлинній тканині сприяє підвищенню в ній вмісту ФЛ. Пухлина, в свою чергу, впливає на системний метаболізм ліпідів і ФЛ, що знаходить своє відображення в рівнях ФЛ у крові та кістковому мозку (КМ).

Мета: виявити залежність між ФЛ сироватки крові, рівнем гіпоксії пухлини і наявністю дисемінованих пухлинних клітин (ДПК) у КМ хворих на рак шлунка (РШ).

Об'єкт і методи. Досліджували периферичну кров (ПК), пунктати КМ, отримані перед оперативним втручанням, і зразки пухлинної тканини (операційний матеріал) 47 хворих на первинний РШ і ПК 17 донорів. Усі пацієнти були проінформовані про дослідження та дали свою згоду. Сироватку крові отримували загальноприйнятим методом. Виявлення ДПК (цитокератин-позитивних клітин) серед мононуклеарів КМ на цитоспінових препаратах проводили імуноцитохімічним методом із використанням МкАТ проти панцитокератинів (panCK) (clone AE1/AE3, Dako Cytomaiton, Данія). ³¹Р ЯМР-спектри (ЯМР — ядерний магнітний резонанс) сироватки крові були виміряні на спектрометрі Mercury-300BB (Varian, США), обладнаному Spars station при 121,5 МГц, зі спектральною шириною 12 000 Гц. Оцінка рівня гіпоксії пухлини на підставі визначення співвідношення РМЕ/Рі методом ³¹Р ЯМР-спектроскопії виконували на спектрометрі Bruker 400 MHz (Widebore Ultrashield, AV-400 electronics, ФРН) при 161,976 МГц, зі спектральною шириною в 64724,9 Гц.

Результати. Концентрації всіх ФЛ, які реєструють на ³¹Р ЯМР-спектрах сироватки крові хворих на РШ, а саме — фосфатидилхоліну + плазмалогенхоліну (PC + CPLAS), лізофосфатидилхоліну (LPC) та сфінгомеліну + фосфатидилетаноламіну (SM + PE), знижуються (на 37,6 і 69%; $p < 0,05$; та 26,7% відповідно) у хворих порівняно з такими, які фіксують у донорській сироватці. Найбільш чутливим до метаболічних змін виявився LPC, значне зниження якого свідчить про несприятливий прогноз перебігу захворювання. Для пацієнтів із РШ встановлена медіана LPC (0,160 ммоль/л), яка є значно нижчою, ніж середнє значення концентрації LPC у донорській сироватці (250 ммоль/л). Згідно з розподілом рівнів гіпоксії щодо співвідношення РМЕ/Рі, пухлини характеризуються як гіпоксичні, коли РМЕ/Рі < 1,4, тоді як при РМЕ/Рі > 1,4 пухлини є «задовільно» оксигенованими. Встановлено, що у випадку, коли в сиро-

ватці крові хворих концентрація LPC < 0,160 ммоль/л, тобто досить низька, а первинна пухлина знаходиться в умовах гіпоксії (PME/PI < 1,4), вірогідність появи ДПК у КМ зростає до 67% (p < 0,001) проти 37,5% — у випадку, коли в сироватці крові пацієнтів концентрація LPC > 0,160 ммоль/л, а первинна пухлина перебуває в умовах «задовільної» оксигенації (PME/PI > 1,4).

Висновки. Встановлено, що низькі концентрації ФЛ, особливо LPC, у сироватці крові хворих на РШ перебувають у залежності від гіпоксичного стану первинної пухлини, який свідчить про ступінь агресивності пухлини, та можуть бути використані у клінічній практиці з метою визначення ризику метастазування та прогнозу клінічного перебігу захворювання, особливо за умов індивідуалізації терапії.

МИТОХОНДРИАЛЬНИЙ КОНТРОЛЬ АДИПОЦИТІВ ПРИ ПУХЛИННОМУ ПРОЦЕСІ

А.П. Бурлака, І.І. Ганусевич

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ
apburlaka@gmail.com

Вступ. Ожиріння безпосередньо впливає на частоту розвитку злоякісних пухлин. Встановлено, що 15–20% усіх смертей від раку пов'язані із зайвою масою тіла. Ризик розвитку колоректального раку (КР) зростає на 7% на кожні 2,4 одиниці індексу маси тіла. Активна жирова тканина виділяє жирні кислоти, гормони й адипоцитокіни. Ожиріння характеризується підвищеним генеруванням супероксидних радикалів, зростанням рівнів його метаболітів у вісцеральній жировій тканині.

Мета: дослідити дані літератури щодо механізмів мітохондріального контролю адипоцитів при пухлинному процесі.

Об'єкт і методи: літературний пошук.

Результати. Супероксидні радикали регулюють обмін речовин, гемостазис, ріст, васкуляризацію, метастазування, коагуляцію і запалення. Жирова тканина складається з адипоцитів, ендотелію судин, перипіттів, моноцитів, макрофагів і гілорипотентних стовбурових клітин. Отримано переконливі дані, що ожиріння є важливим фактором розвитку деяких видів раку, в тому числі КР і раку молочної залози (РМЗ). Пошкоджувальним фактором для жирової тканини за умов ожиріння вважають редокс-стан мітохондрій клітин, що входять до її складу. Питаннями, які потребують вирішення, є: докази порушення окисного фосфорильовання (OxPhos) в мітохондріях адипоцитів та інших клітин (виникнення мітохондріальної дисфункції — перепрограмування метаболізму у бік гліколізу та генерування супероксидних радикалів) при розвитку КР і РМЗ; механізми, за допомогою яких мітохондріальна дисфункція адипоцитів ініціює розвиток злоякісних пухлин і редокс-залежну індукцію стійкості пухлинних клітин до загибелі. Зміни функцій мітохондрій та енергетичного метаболізму є відмінною характеристикою пухлинних клітин, а потенційна роль ожиріння може полягати в посиленні цих характеристик пухлини. Це питання на сьогодні мало досліджене.

Висновки. Вважаємо, що порушення OxPhos у мітохондріях адипоцитів підвищує схильність до розвитку КР і РМЗ через перепрограмування метаболізму мітохондрій, активацію нерегульованого генерування супероксидних радикалів, формування клітинної гіпоксії та активації АКТ і запалення, пригнічення функції p53 і PTEN. З урахуванням того, що при розвитку дисфункції мітохондрій адипоцити стають головним джерелом супероксидних радикалів і енергії для потреб пухлинних клітин, розуміння механізмів метаболічного симбіозу між раковими клітинами й адипоцитами відкриває нові терапевтичні можливості.

РІВНІ ЛАКТОФЕРИНУ, «ВІЛЬНОГО ЗАЛІЗА» ТА ЕКСПРЕСІЯ КІ-67 У ХВОРИХ НА РАК ПРЯМОЇ КИШКИ: ВПЛИВ НА ПЕРЕБІГ ЗАХВОРИВАННЯ

А.П. Бурлака¹, В.В. Голотюк², А.В. Вояк¹, С.М. Лукін¹, С.П. Сидорик¹

¹Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ

²ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», Івано-Франківськ
apburlaka@gmail.com

Вступ. Лактоферин (ЛФ) — залізов'язуючий негемовий білок сімейства трансферинів. ЛФ регулює біодоступність заліза при ре-

лізації метаболічних функцій клітини, зокрема проліферації, маркером якої є експресія ядерного антигену Ki-67. Максимальний рівень білка реєструють під час проліферації. Появу «вільного заліза» у тканинах відзначають внаслідок окисно-індукованої деструкції залізовмісних гемових і негемових білків.

Мета: дослідити взаємозв'язок між експресією ядерного антигену Ki-67 та рівнем ЛФ і «вільного заліза» у пухлинах хворих на рак прямої кишки (РПК) як прогностичних показників.

Об'єкт і методи. Рівень ЛФ і «вільного заліза» у клітинах пухлини прямої кишки (ПК) визначали методом електронного парамагнітного резонансу за температури рідкого азоту (77 К). Імуногістохімічне визначення експресії маркера проліферації Ki-67 проводили в біотичному матеріалі пухлинно-ураженої та інтактної ПК пацієнтів із РПК з використанням як первинних антитіл анти-Ki-67 (Santa Cruz, CA, USA, розведення 1 : 200) і вторинних флуоресцеїнвмісних антитіл Alexa Fluor 546 Ab та Alexa Fluor 488 (Invitrogen, USA, розведення 1 : 500). Імунопозитивні тканини досліджували з використанням лазерного конфокального сканувального мікроскопа Zeiss LSM 510. Кількісне визначення рівня експресії досліджуваних молекулярних маркерів проводили з використанням медичного програмного забезпечення обробки цифрових зображень ImageJ 1.48. Статистичний аналіз виконували із застосуванням прикладної ліцензійної програми Origin 7.0. Різницю між показниками вважали достовірною при p < 0,05.

Результати. Встановлено, що в аденокарциномах G2 та G3 ПК концентрація ЛФ і «вільного заліза» становила $9,0 \cdot 10^{15}$ та $3,2 \cdot 10^{16}$; $2,8 \cdot 10^{17}$ та $9,4 \cdot 10^{17}$ спінів/г сирової тканини відповідно. У слизовій оболонці кишки на відстані 15 см від пухлини ці показники становили $0,6 \cdot 10^{15}$ та $< 1,1 \cdot 10^{17}$ спінів/г сирової тканини. Крім цього, у межах інтактної слизової оболонки ПК експресія Ki-67 була найбільш вираженою в ділянках залозистого кишкового епітелію, тоді як у сполучотканинній стромі рівень імуносигналу Ki-67 був мінімальним. У пухлинній тканині експресія Ki-67 мала виражений характер у більшості клітин атипових залозоподібних структур. Її середній рівень становив $46,08 \pm 3,14$ проти $33,2 \pm 2,61$ ум. од. в інтактній слизовій оболонці, причому у випадках низького ступеня диференціювання пухлин він був достовірно вищим, як і вміст ЛФ, ніж у високодиференційованих, досяг відповідно $52,65 \pm 4,48$ і $38,01 \pm 2,94$ ум. од. (p < 0,001). У сполучотканинній стромі експресія Ki-67 була значно нижчою порівняно з пухлинним епітелієм, проте більш вираженою в осередках реактивних клітинних інфільтратів. Рівень імуносигналу Ki-67 у пухлинній паренхімі корелював зі стадією пухлинного процесу, ступенем диференціювання пухлини, рівнем ЛФ і «вільного заліза». Новоутворення з критерієм T2–4 без ознак метастазування характеризувалися рівнем експресії Ki-67 у середньому в 1,4 раза нижчим, ніж у випадках T2–4N1–2M0.

Висновки. Виявлено, що корелятивний взаємозв'язок між експресією Ki-67 та рівнем ЛФ, а також вмістом «вільного заліза» мав позитивну спрямованість (r = 0,76 і r = 0,68 відповідно), що свідчить про безпосередній вплив ЛФ і «вільного заліза» на інтенсивність проліферативних процесів у пухлинах. Знижені значення Ki-67, ЛФ і «вільного заліза» виявлено в пухлинах зі сприятливим клінічним перебігом, тоді як підвищені — у метастазуючих, що асоціюється з агресивним фенотипом колоректального раку.

МАТРИКСНІ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗИ ЯК ФАКТОРИ СТРОМАЛЬНОГО МІКРООТОЧЕННЯ ПУХЛИНИ: РОЛЬ У ПЕРЕБІГУ МІНІМАЛЬНОЇ ЗАЛИШКОВОЇ ХВОРОБИ ПРИ РАКУ ШЛУНКА

І.І. Ганусевич¹, Л.А. Мамонтова¹, А.В. Ковельська¹, Л.Д. Гуменюк¹, С.П. Меренцев², С.П. Осинський¹

¹Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

²Київський міський клінічний онкологічний центр МОЗ України, Київ, Україна
iganus2000@yahoo.com

Вступ. Матриксні металопротеїнази (ММП) активуються за умов гіпоксії, є фактором мікрооточення пухлинних клітин у первинній пухлині та місцях віддаленого метастазування, забезпечують дисемінацію пухлинних клітин і вважаються критичними молекулами метастазування. Нині особливий інтерес онкологів сфокусований на вивченні ММП як тригерів виходу дисемінованих пух-

линних клітин (ДПК) зі «сплячого» стану при мінімальній залишковій хворобі (МЗХ).

Мета: дослідити залежності між показниками активності желатинази у кістковому мозку (КМ) і деякими гіпоксіясоційованими факторами мікрооточення при раку шлунка (РШ); виявити зв'язки між рівнями активності желатинази у КМ хворих на РШ і стадіями захворювання, рівнем метастазування, наявністю ДПК у КМ; визначити залежності між показниками активності желатинази у КМ і тривалістю життя хворих, можливості їх використання для прогнозу перебігу МЗХ при РШ.

Об'єкт і методи. Досліджено 112 хворих на РШ (із них 75 чоловіків, 37 жінок), яких розподілили за стадіями захворювання таким чином: 19 осіб — I, 32 — II, 34 — III та 27 — IV стадія. Використано метод зимографії в поліакриламідному гелі, імуногісто- та імуноцитохімічні методики. У статистичній обробці застосовували *t*-критерій Стюдента, кореляційний аналіз, аналіз виживаності за Капланом — Мейером.

Результати. Виявлено кореляції між активністю ММП-2 та -9 у КМ хворих на РШ, з одного боку, та експресією гіпоксіясоційованих білків ПФ-1, CD34 (щільністю мікросудин) та FLT (рецептором ВЕФР) у пухлинах, з іншого ($r = 0,30-0,51$; $p < 0,05$). Активність желатинази відзначено у КМ у всіх обстежених хворих на РШ, включно із тими, у яких не виявлено ДПК у КМ. Рівні активності желатинази у КМ пацієнтів із РШ не корелюють із показниками метастазування як у лімфатичні вузли, так і віддаленого метастазування ($p > 0,05$). Для всіх досліджених пацієнтів, а також для тих із них, у кого клінічно не виявлено віддалених метастазів (категорія M0), зв'язок із ДПК достовірно відзначений для ММП-2, активність якої в КМ із відсутніми ДПК була майже в 3 рази нижчою за активність у КМ з наявними ДПК. Хворі, які не одержали післяопераційної терапії, з активністю ММП-2 у КМ, нижчою за 2,8 ум. од., живуть достовірно довше, ніж із вищою активністю ($p = 0,016$). Пацієнти з активністю ММП-9 у КМ, нижчою за 3 ум. од., живуть довше, ніж із вищою активністю, хоча різниця недостовірна ($p = 0,218$). При цьому як за умови відсутності, так і за наявності ДПК у КМ, крапчу виживаність відзначали в групах із показниками активності ММП-2, нижчими за 3,6 та 4,8 ум. од. відповідно. Вірогідно, в першому випадку ММП-2 контролює дисемінацію, а у другому — виділення ДПК зі «сплячого» стану.

Висновки. Желатинази КМ є гіпоксіясоційованими факторами мікрооточення при РШ; ММП-2 у КМ хворих на РШ асоційована з дисемінацією пухлинних клітин і є маркером МЗХ; ММП-2 та -9 у КМ можуть бути використані у контролі перебігу захворювання у пацієнтів із РШ.

ЖЕЛАТИНАЗИ ПУХЛИНИ ТА СИРОВАТКИ КРОВІ ХВОРИХ НА РАК ШЛУНКА: ЗВ'ЯЗОК З МЕТАСТАЗУВАННЯМ

І.І. Ганусевич, Л.А. Мамонтова, А.В. Ковельська, Л.Д. Гуменюк, С.П. Осинський

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ
iganus2000@yahoo.com

Вступ. Матриксні металопротейнази (ММП)-2 та -9 (або желатинази А і В) здійснюють протеоліз позаклітинного матриксу при фізіологічних процесах і патологічних станах, продукуються пухлинними клітинами (ПК) та клітинами строми, є фактором мікрооточення ПК і забезпечують їхню інвазію та дисемінацію на всіх етапах метастазування.

Мета: дослідити зв'язки між показниками активності ММП-2 і -9 у пухлині та наявністю дисемінованих пухлинних клітин (ДПК) у лімфатичних вузлах (ЛВ) і кістковому мозку (КМ) хворих; вивчити рівні активності ММП-2 та -9 у сироватці крові пацієнтів до та після оперативного втручання з видалення пухлини; виявити зв'язок показників активності желатинази у пухлині та сироватці крові з деякими клініко-патологічними характеристиками та тривалістю життя хворих на рак шлунка (РШ).

Об'єкт і методи. Досліджено 112 хворих на РШ (75 чоловіків, 37 жінок), яких розподілили за стадіями захворювання таким чином: 19 осіб — I, 32 — II, 34 — III, 27 — IV стадія. Усі пацієнти були проінформовані та дали згоду на дослідження. Використано метод зимографії в поліакриламідному гелі та імуноцитохімічні ме-

тодики. У статистичній обробці результатів використано *t*-критерій Стюдента, кореляційний аналіз, аналіз виживаності за Капланом — Мейером.

Результати. Показники активності ММП-2 позитивно корелюють зі стадією захворювання і негативно — із наявністю віддалених метастазів ($p < 0,05$); не відзначено достовірних розбіжностей між показниками активності желатинази у пухлині хворих із категоріями N0 і N1-2. При цьому в пухлинах пацієнтів, у ЛВ яких зареєстровано ДПК, спостерігають значно вищі (у 2 рази; $p < 0,05$) показники активності ММП-2 порівняно з пухлинами хворих, у ЛВ яких ДПК відсутні. Значення активності ММП-2 < 1 ум. од. у пухлинній тканині супроводжувалися відсутністю ДПК у КМ хворих, тоді як при активності ММП-2 > 1 ум. од. відмічено наявність ДПК у КМ. Усі обстежені, що не отримували післяопераційної терапії, живуть достовірно довше при значеннях концентрації активних форм ММП-2 $< 2,0$ і ММП-9 $< 4,5$ мкг/г, ніж при ММП-2 $> 2,0$ і ММП-9 $> 4,5$ мкг/г пухлинної тканини ($p = 0,004$ і $p = 0,015$ відповідно). Виявлено, що показники активності желатинази у сироватці крові в одній групі пацієнтів після операції значно знижуються ($p < 0,05$), а в другій — навпаки, зростають ($p < 0,05$), що може бути наслідком, зокрема, гастректомії. Для першої групи хворих, у сироватці крові яких після видалення первинної пухлини відзначено зниження активності желатинази, виявлено залежність тривалості життя пацієнтів від показників активності як ММП-2, так і -9. Пацієнти, що не отримували післяопераційної терапії, живуть достовірно довше при концентрації активних форм ММП-2 $< 0,2$ і ММП-9 $< 0,5$ мкг/мл, ніж при ММП-2 $> 0,2$ і ММП-9 $> 0,5$ мкг/мл сироватки крові ($p = 0,022$ і $p = 0,015$ відповідно).

Висновки. ММП-2 у пухлині асоційована з дисемінацією ПК. ММП-2 та -9 у пухлині та сироватці крові є факторами, що впливають на перебіг РШ. Дослідження сироватки крові може бути доцільним для моніторингу активності ММП-2 і -9 у післяопераційний період, коли отримання зразків тканин у хворого неможливе.

ЗНАЧЕННЯ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ РЕПАРАЦІЇ ДНК XRCC1 ТА XPD В ОСІБ, ЯКІ ЗАЗНАЛИ ДІЇ ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ ВНАСЛІДОК АВАРІЇ НА ЧОРНОБИЛЬСЬКІЙ АЕС, У РОЗВИТКУ РАКУ ЦИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

С.О. Генік-Березовська¹, В.М. Шкарупа², В.В. Талько², С.В. Кламенко²

¹ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України», Львів

²ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України», Київ
shkarupa_vlad@bigmir.net

Вступ. Якщо зв'язок між аварією на Чорнобильській АЕС і виникненням раку щитоподібної залози (РЩЗ) у дітей є безсумнівним, то питання асоціації з розвитком цієї патології у дорослих залишається суперечливим. Реакція організму людини на радіаційний вплив визначається багатьма факторами, у тому числі індивідуальною радіочутливістю, одним із критеріїв якої є ризик розвитку злоякісних новоутворень, пов'язаний з дією іонізуючого випромінювання (ІВ). Вважають, що індивідуальна радіочутливість має мультифакторіальну природу і значною мірою зумовлюється генетичними особливостями, серед яких важливу роль відіграють поліморфні варіанти генів-модифікаторів, ефект яких модулюється чинниками довкілля. Більшість із цих генів мають низьку пенетрантність стосовно злоякісних новоутворень, але частота поширеності їх поліморфних варіантів у популяції може досягати високих значень. За останні роки ідентифіковано десятки поліморфних генів-кандидатів, які можуть брати участь у формуванні онкологічного ризику. Особливе місце серед них займають гени репарації ДНК. Останнім часом значну увагу дослідників привертає взаємозв'язок поліморфізму генів репарації XRCC1 та XPD із розвитком онкопатології.

Мета: визначити та порівняти особливості поліморфізму генів репарації XRCC1 Arg399Gln та XPD Lys751Gln в осіб, які зазнали дії ІВ внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС і захворіли на РЩЗ, та у хворих без впливу ІВ в анамнезі.

Об'єкт і методи. Досліджено 102 хворих на РЩЗ, вплив ІВ в анамнезі захворювання був у 38 з них. Визначення поліморфізмів генів білків репарації ДНК проведено методом полімеразної ланцюгової реакції з електрофоретичною схемою детекції продуктів ампліфікації.

Результати. Уперше в Україні визначено частоту поліморфних алелів генів білків репарації пошкоджень ДНК — XPD Lys751Gln та XRCC1 Arg399Gln у хворих на РШЗ, які зазнали дії іонізуючої радіації внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС (0,49 та 0,57 відповідно) та у пацієнтів із РШЗ без впливу ІВ в анамнезі (0,39 та 0,37 відповідно). Частота мінорного алеля гена XRCC1 в осіб, які зазнали впливу ІВ в анамнезі, достовірно вища, ніж у групі порівняння ($p = 0,006$). Ризик розвитку РШЗ у гомозиготних носіїв мінорного алеля XRCC1 Arg399Gln в осіб, які зазнали впливу ІВ, виявився достовірно підвищеним (OR 4,14; $p = 0,001$; 95% ДІ 1,72–9,93). Для гомозиготних носіїв мінорних алелів XRCC1 Arg399Gln, які не зазнавали впливу ІВ в анамнезі, не виявлено підвищеного ризику розвитку РШЗ. Зв'язку поліморфізму XPD Lys751Gln із розвитком РШЗ у осіб досліджених груп не виявлено.

Висновки. Носійство мінорного алеля XRCC1 Arg399Gln в осіб української популяції, які зазнали впливу ІВ, є фактором ризику розвитку РШЗ.

ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ НЕОПЛАСТИЧНОГО ПРОЦЕСУ ЗА ВПЛИВУ КАНЦЕРОГЕННЕБЕЗПЕЧНИХ ФАКТОРІВ НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

О.А. Главін, Л.І. Маковецька, Н.А. Петрук, В.М. Михайленко
Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ
Yeterok61@ukr.net

Вступ. Екзогенні оксиди азоту (ОА) та малі дози іонізуючого випромінювання (ІВ) належать до поширених забруднювачів навколишнього середовища, що можуть впливати на систему протипухлинного захисту організму та ріст пухлин. На моделі карциноми легені Льюїс (КЛЛ) показано, що активація синтезу ендогенних ОА може знижувати інтенсивність метастазування пухлини. Однак практично відсутні подібні дослідження за умов тривалого впливу екзогенних ОА та їх комбінованої дії з ІВ.

Мета роботи: дослідити комбінований вплив екзогенних ОА та малих доз ІВ на ріст і метастазування КЛЛ і виживаність експериментальних тварин.

Об'єкт і методи. Дослідження проведено на мишах-самцях лінії С57Ві6 масою 20–24 г. Тварини зазнавали індивідуального та поєднаного впливу екзогенних ОА (протягом 34 діб по 8 год при концентрації 25 мг/м³ повітря по NO) та фракціонованого опромінення в дозі 1 Гр (10 разів по 0,1 Гр). Вплив ОА та опромінення починали за 5 діб до перещеплення пухлин і закінчували на 28-му та 23-тю добу їхнього росту відповідно. З 6-ї по 28-му добу росту КЛЛ у тварин визначали розміри первинної пухлини, на 28-му добу проводили підрахунок кількості та оцінювали розмір метастазів у легенях. Також аналізували виживаність тварин.

Результати. У тварин, що зазнали окремого впливу екзогенних ОА, розміри первинної пухлини достовірно перевищували (в 1,4–1,7 раза; $p < 0,05$) контрольні значення в період з 16-ї по 26-ту добу росту КЛЛ із найбільшою різницею на 18-му добу. Також дія ОА призводила до достовірного збільшення кількості метастазів у легенях (у 1,8 раза; $p < 0,05$) тенденцією до зростання їх загального об'єму та активації метастазування на 81,4%. Фракціоноване опромінення тварин достовірно не впливало на кількість та об'єм метастазів у легенях, однак за умов комбінованого впливу ОА та ІВ середня кількість метастазів збільшувалася в 1,6 раза ($p < 0,05$), а активація метастазування досягла 57,8%. На 28-му добу росту КЛЛ виживаність тварин, що зазнали дії ІВ, становила 90,9% і достовірно не відрізнялась від контрольної групи (81,8%). Водночас за тривалого впливу ОА вона сягала лише 62,7% ($p < 0,05$). За комбінованої дії ОА та ІВ відзначено найвищий рівень загибелі експериментальних тварин. Їх виживаність знижувалася до 46,8% і була достовірно нижчою порівняно з іншими експериментальними групами ($p < 0,05$).

Висновки. Показано, що тривала дія канцерогеннебезпечних факторів навколишнього середовища суттєво впливає на перебіг неопластичного процесу. Дія екзогенних ОА підвищує інтенсивність метастазування КЛЛ і росту первинної пухлини, а також знижує виживаність експериментальних тварин. Найвищу смертність тварин зафіксовано за умов комбінованого впливу ОА та ІВ.

РОЛЬ ОКРЕМИХ МАРКЕРІВ ЛІКАРСЬКОЇ СТІЙКОСТІ В ПРОГНОЗУВАННІ ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА КОЛОРЕКТАЛЬНИЙ РАК ПЛАТИНОВІСНИМИ ХІМІОПРЕПАРАТАМИ

М.В. Глянько¹, В.С. Жильчук², Ю.Й. Кудрявець²

¹Краматорський онкодиспансер, Краматорськ

²Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ

³Рівненський обласний онкологічний диспансер, Рівне
beznaia@mail.ru

Вступ. Проблемним на сьогодні лишається підбір ефективних схем хіміотерапії для лікування хворих на колоректальний рак (КРР) внаслідок недостатньої інформованості щодо чутливості пухлин до хіміотерапії та експресії маркерів прогнозу подальшого розвитку процесу після операційного втручання. Перспективним для вдосконалення згаданих схем може бути розширення спектра досліджуваних антигенів пухлин за рахунок аналізу білків, що характеризують їхню чутливість до протипухлинних препаратів.

Мета: дослідити експресію білків, асоційованих з лікарською стійкістю, для прогнозування ефективності застосування платиновмісних хіміопрепаратів у хворих на КРР.

Об'єкт і методи. Клінічні, статистичні методи та імуногістохімічний аналіз експресії пухлинних білків топоізомерази II альфа (Топо II) і ERCC1 у хворих на КРР ($n = 20$), які в комплексі з оперативним лікуванням пройшли курс променевої терапії та курси поліхіміотерапії (ПХТ), що включали препарати фторпіримідинового ряду в поєднанні з платиновмісним цитостатиком: кожен пацієнт отримав від 3 до 4 курсів ПХТ в ад'ювантному режимі. За стадійністю хворих розподілено таким чином: Т3N0M0 — 10, Т3N1M0 — 5, Т4N0M0 — 3, Т4N0–1M0 — 2 пацієнти; період спостереження — 12 міс.

Результати. Продовження хвороби відзначено у 7 (35%) пацієнтів. При цьому ERCC1-позитивні клітини виявили у 3 (42%) хворих з продовженням хвороби і у 7 (58%) — зі стабілізацією процесу. Топо II-позитивних клітин у матеріалах пацієнтів із продовженням хвороби не виявлено, при цьому у 3 (25%) хворих з відсутністю прогресування патологічного процесу зафіксовано невелику кількість клітин зі слабкою експресією цього білка. Показано, що за період спостереження в 11 (84%) випадках відсутності продовження хвороби досліджених маркерів у пухлинному матеріалі не виявляли. За клінічними спостереженнями, повний збіг низького ризику метастазування і продовження захворювання з високою чутливістю до терапії препаратами платини відзначено у 3 (15%) пацієнтів, високий ризик продовження хвороби з низькою чутливістю до препаратів платини — у 1 (5%) пацієнта (помер від продовження захворювання в перші 3 міс після операції). Для поліпшення інформативності отриманих даних потрібні подальші спостереження та застосування додаткових маркерів, зокрема, за нашими попередніми результатами, маркерів епітеліально-мезенхімального переходу.

Висновки. Встановлено факти, що корелюють зі світовими даними, щодо прогностичного значення маркерів, асоційованих з лікарською стійкістю (ERCC1 та Топо II альфа), які можуть прогнозувати ризик прогресування пухлинного процесу у хворих на КРР при лікуванні платиновмісними хіміопрепаратами. Очевидно, що для підвищення ефективності прогнозування результатів хіміотерапії пацієнтів із КРР спектр маркерів має бути значно розширений, особливо за рахунок білків епітеліально-мезенхімального переходу і стовбурових пухлинних клітин.

ПРЕДИКТИВНА ЦІННІСТЬ БІОМАРКЕРІВ ОКСИСНОГО ПОШКОДЖЕННЯ ДНК У КОМБІНОВАНОМУ ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА РАК ПРЯМОЇ КИШКИ

В.В. Голотюк¹, А.П. Бурлака², А.В. Вовк²

¹ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», Івано-Франківськ

²Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ

golotiu@rambler.ru

Вступ. Актуальним є пошук науково обґрунтованих підходів до підвищення ефективності неoad'ювантного лікування хворих

зі злюкисними пухлинами, що дало б змогу поліпшити безпосередній клінічний та патоморфологічний ефект променевої терапії (ПТ) за рахунок індивідуалізованого підбору схем лікування залежно від прогностичних молекулярно-біологічних маркерів пухлинного процесу. Незважаючи на тривалу історію досліджень, вибір адекватних і високоінформативних біомаркерів, використання яких забезпечило б прогнозування відповіді раку прямої кишки (РПК) на цитотоксичну, зокрема передопераційну ПТ (ППТ), залишається проблематичним.

Мета: з'ясувати доцільність застосування біомаркерів окисного пошкодження ДНК: супероксидних радикалів, 8-оксогуаніну (8-oxoG) та 8-гідроксо-2'-дезоксогуанозину (8-oxodGu) — для прогнозування рівня радіочутливості пухлин у хворих на РПК.

Об'єкт і методи. Охарактеризовано критерії чутливості пухлин до ППТ за допомогою визначення швидкості генерування супероксидних радикалів клітинами пухлини в біопсійному матеріалі до початку лікування та реєстрації рівня 8-oxoG та 8-oxodGu у зразках сечі 32 пацієнтів (14 чоловіків і 18 жінок; вік $62,5 \pm 1,8$ року) з аденокарциномою прямої кишки стадії T2–4N0–2M0 до початку і через 1 добу після першого сеансу ППТ. Швидкість генерування супероксидних радикалів визначали на комп'ютеризованому радіоспектрометрі електронного парамагнітного резонансу при кімнатній температурі, рівень 8-oxoG та 8-oxodGu у сечі — за допомогою методу спектrophотометрії. Загальна вогнищева доза ППТ становила 40 Гр, разова — 2 Гр. Радикальну операцію виконували через 5–6 тиж після закінчення ППТ. Ефективність ППТ оцінювали за рівнем лікувального патоморфозу в гістологічних препаратах операційного матеріалу пухлин.

Результати. Сприятливими прогностичними факторами, які свідчать про радіочутливість пухлини, можна вважати значення швидкості генерування супероксидних радикалів клітинами пухлини до лікування $>1,0$ нМоль/хв·г сирової тканини, низький рівень добової екскреції 8-oxoG з сечею до лікування — $<0,5$ нМ/добу·кг маси тіла, зростання показника 8-oxoG у сечі хворого через 1 добу після початку ППТ на $\geq 50\%$ відносно вихідного рівня. За відсутності сприятливих факторів прогноз ефективності ППТ визначають як негативний, за наявності 1–2 факторів передбачають помірну ефективність лікування, за наявності всіх 3 чинників прогнозують високу ефективність ППТ.

Висновки. Результати проведених досліджень дозволяють виділити нові прогностичні критерії, комплексне дослідження яких характеризує рівень радіочутливості РПК. Враховуючи, що основою тералевтичного ефекту ППТ є окисне пошкодження біологічних макромолекул продуктами радіолізу води, закономірно, що параметри маркерів оксидативного пошкодження ДНК, інтенсивність якого суттєво зростає внаслідок опромінення, можуть корелювати з рівнем лікувального впливу.

ЗАСТОСУВАННЯ ІОННИХ БЛОКАТОРІВ КЕТАМІНУ ТА ВЕРАПАМІЛУ ДЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ДИФЕРЕНЦІЙНОЇ ДІАГНОСТИКИ РЕЦИДИВІВ ГЛІОМ ТА ГАЛЬМУВАННЯ ПУХЛИНОАСОЦІЙОВАНОГО ЗАПАЛЕННЯ ПРИ ГЛІОМАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Н.Я. Гридіна, В.В. Розуменко, А.М. Морозов, Н.Г. Драгунова
ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова
НАМН України», Київ
gridinanina@ukr.net

Вступ. Наявність некрозів у тканинах злюкисних гліом впливає на активність NMDA-рецепторів, що призводить до підвищення рівня агрегації клітин крові та активізації пухлиноасоційованого запалення, яке стимулює подальший ріст і прогресію пухлин. Гальмування агрегації клітин крові за допомогою блокатрив NMDA-рецепторів у умовах *in vivo* може сприяти пригніченню росту експериментального штаму 101.8 гліоми шурів. Застосування блокатрив NMDA-рецепторів *in vitro* дає змогу модифікувати активність цих рецепторів для проведення диференційної діагностики ступеня злюкисності гліом, а також між запальними процесами пухлинного та непухлинного походження.

Мета: розробити методи диференційної діагностики між рецидивами гліом II та IV ступеня злюкисності, а також між на-

слідками черепно-мозкової травми (ЧМТ) та рецидивами гліом III та IV ступеня злюкисності за зміною показників агрегації клітин крові під впливом іонних блокатрив кетаміну та верапамілу у умовах *in vitro*, а також провести дослідження на шурах зі щепленими гліомами штаму 101.8 із застосуванням експериментально обумовлених концентрацій кетаміну та верапамілу для пригнічування росту гліоми штаму 101.8.

Об'єкт і методи. Проведено дослідження агрегації клітин крові у 132 пацієнтів із гліомами різного ступеня злюкисності у порівнянні з 34 пацієнтами з ЧМТ середнього ступеня важкості та 26 здоровими особами (донори). Для вивчення агрегації клітин крові розроблено прилад «Плазмон», що дає змогу оцінювати об'єктивні зміни агрегації клітин крові без впливу іонних розчинів чи буферних систем. До 200 мкл клітин крові пацієнтів у умовах *in vitro* додавали по 20 мкл 0,25% розчину верапамілу гідрохлориду або кетаміну гідрохлориду (25 мг/мл) у діапазоні розведень від 10 000 до 100 000 разів з метою підбору концентрацій препаратів, що найбільш ефективно знижують рівень агрегації клітин крові. Препарати в концентраціях, які максимально знижували рівень агрегації клітин крові, вводили щоденно внутрішньоочеревинно в об'ємі 50 мкл 70 шуром із гліомою штаму 101.8 (аналог гліобластоми людини) на 7-й день після щеплення до перших проявів агонії тварин. Контрольним тваринам вводили фізіологічний розчин хлориду натрію в аналогічних умовах. Рівень агрегації клітин крові досліджували за допомогою приладу «Плазмон» за показниками кутового відхилення лазерного променя (поверхневий плазмонний резонанс — ППР) при його проходженні через вкриту шаром золота скляну пластину з клітинами крові на поверхні.

Результати. Показано, що розведення препаратів кетаміну у 10 000 разів дає змогу відрізнити за показниками ППР пацієнтів із ЧМТ від хворих із гліомами III або IV ступеня злюкисності. Для диференційної діагностики між гліомами II та IV ступеня злюкисності був використаний препарат верапамілу, розведений у 10 000 разів. Препарати верапамілу та кетаміну у вказаних розведеннях сприяли статистично вірогідному подовженню терміну життя шурів зі щепленою гліомою 101.8 за рахунок гальмування пухлиноасоційованого запалення.

Висновки. 1. Препарати кетаміну гідрохлориду у розведенні 10 000 разів сприяли проведенню диференційної діагностики між ЧМТ і рецидивами гліом III–IV ступеня злюкисності. 2. Препарати верапамілу гідрохлориду у розведенні 10 000 разів можна використовувати для проведення диференційної діагностики між рецидивами гліом II та IV ступеня злюкисності. 3. Препарати кетаміну та верапамілу у розведенні 10 000 разів сприяли статистично вірогідному продовженню терміну життя у шурів зі щепленою гліомою 101.8 в експериментах *in vivo*.

ПУХЛИНОАСОЦІЙОВАНІ МАКРОФАГИ, ЇХ ЗВ'ЯЗОК З МІКРООТОЧЕННЯМ ТА ПЕРЕБІГОМ РАКУ ШЛУНКА

Л.Д. Гуменюк, І.І. Ганусевич, Л.М. Бубновська, А.В. Ковельська,
Л.А. Мамонтова, С.П. Осинський

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ
gumenyuk_ld@ukr.net

Вступ. Більшість прогресуючих солідних новоутворень активно інфільтровані пухлиноасоційованими макрофагами (ПАМ), які є однією з головних ознак запалення, пов'язаного з пухлиною. ПАМ характеризуються вираженою здатністю адаптуватися до гіпоксії. Гіпоксія може інгібувати їх мобільність, сприяючи накопиченню в гіпоксичних ділянках. При цьому відзначають супресію протипухлинної активності ПАМ і стимуляцію експресії ними пропухлинних факторів, ферментів, транскрипційних чинників. Разом з тим у помірно окисненованих ділянках пухлини ПАМ можуть відігравати роль як негативних, так і позитивних регуляторів росту пухлини. Є дані про неоднозначність «поведінки» ПАМ залежно від мікрооточення пухлини.

Мета: дослідити взаємозв'язки між кількістю ПАМ, рівнем гіпоксії, експресією HIF-1 α , IL-10, щільністю мікросудин (ЩМС) і концентрацією активних форм матриксних металопротейназ (ММП)-2 і -9 у пухлинній тканині, їхній зв'язок із клі-

ніко-патологічними характеристиками та виживаністю хворих на рак шлунка (РШ).

Об'єкт і методи. Досліджено зразки пухлинної тканини (післяопераційний матеріал) 112 пацієнтів із первинним РШ (75 чоловіків, 37 жінок), яких розподілили за стадіями захворювання таким чином: 19 осіб — I, 32 — II, 34 — III, 27 — IV стадія. Усі пацієнти були проінформовані та дали згоду на дослідження. Імуногістохімічним методом з використанням відповідних МкАТ визначали наявність ПАМ (CD68⁺ клітин), IL-10⁺ клітин, HIF-1α⁺ клітин і ЩМС (CD34⁺ клітин). Рівень гіпоксії у пухлинній тканині визначали методом ядерно-магнітного резонансу. Концентрацію активних форм ММП-2 та -9 визначали методом зимографії в поліакриламідному гелі. Відповідно до медіани (23% CD68⁺ клітин) умовно виділяли велику та малу кількість ПАМ.

Результати. В усіх досліджених зразках тканини РШ відмічено позитивну реакцію з МкАТ, специфічними до CD68 (2–63%). Значення медіани CD68⁺ клітин становило 23%. Виявлено, що в пухлинах із високим рівнем гіпоксії кількість ПАМ достовірно більша, ніж у пухлинах із помірним рівнем оксигенації ($\rho = 0,8$; $p < 0,05$). У пухлинах з «глибоким» рівнем гіпоксії у 70% хворих відзначено велику кількість ПАМ. Крім того, виявлено пряму кореляцію між кількістю HIF-1α⁺ клітин і ПАМ ($\rho = 0,3$; $p < 0,05$). Отримані дані свідчать про те, що рівень ПАМ є високим саме в гіпоксичних пухлинах. Встановлено пряму залежність між кількістю ПАМ і експресією IL-10 ($\rho = 0,3$; $p < 0,05$), ЩМС ($\rho = 0,3$; $p < 0,05$), концентраціями активних форм ММП-2 ($\rho = 0,4$; $p < 0,05$) і ММП-9 ($\rho = 0,5$; $p < 0,05$).

Кількість ПАМ у пухлинах при категоріях N1–2 та M1 достовірно більша, ніж при категоріях N0 та M0 відповідно. У пухлинах пацієнтів із IV стадією захворювання вміст ПАМ у 1,4 раза вищий, ніж у пухлинах I стадії. Тривалість життя хворих, у пухлинах яких виявлено велику кількість ПАМ, була значно меншою, порівняно з пацієнтами з малою кількістю ПАМ (оцінка за Капланом — Мейером, log-rank test, $\chi^2 = 15,49$; $p = 0,01$). Ризик несприятливого перебігу захворювання в групі хворих з великою кількістю ПАМ у 2,5 раза вищий, ніж у пацієнтів з малою кількістю ПАМ.

Висновки. Доведено участь ПАМ у процесах метастазування РШ, виявлено їхні зв'язки з факторами мікрооточення пухлини. ПАМ є незалежним прогностичним маркером у хворих на РШ. Визначення кількості ПАМ може бути використано для контролю перебігу захворювання.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ТА КЛІНІЧНА АПРОБАЦІЯ СТВОРЕНОЇ ТЕСТ-СИСТЕМИ ДЛЯ МОНІТОРИНГУ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКУ, РАКУ ТІЛА МАТКИ ТА РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Г.В. Діденко, Є.Г. Шпак, А.П. Кузьменко, О.О. Круць,
Г.П. Потебня, В.М. Базась

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ
Gennadij_D@mail.ru

Вступ. На сьогодні найбільш перспективними для створення діагностичних тест-систем є онкофетальні, або ембріоспецифічні антигени, що зумовлено їхньою універсальністю. Ця універсальність пов'язана з тим, що злоякісна трансформація нормальній клітин супроводжується реекспресією ембріональних антигенів у пухлинах різного гістогенезу. Ще одним перспективним напрямом для створення діагностичної тест-системи можуть бути білкові метаболіти або компоненти клітин *B. megaterium* H. Обґрунтуванням для роботи з цим мікроорганізмом стали дослідження Д.Г. Затули, в яких продемонстровано наявність перекресного реагування цитоплазматичних білків *B. megaterium* H із сироватками крові хворих онкологічного профілю.

Мета: експериментальна розробка та клінічна апробація нової тест-системи для скринінгу та моніторингу колоректального раку (КРР), раку тіла матки (РТМ) та раку молочної залози (РМЗ).

Об'єкт і методи. Дослідження проведено з використанням сироваток крові тварин із саркомою-37 та карциномою легені Льюїс і сироваток крові хворих зі злоякісними новоутвореннями (КРР, РТМ, РМЗ). Контролем були сироватки крові хво-

рих з доброякісними утвореннями відповідних органів, здорових донорів та інтактних тварин. Використано методи експериментальної онкології, статистичного аналізу та імунологічні методи.

Результати. Відібрано й охарактеризовано білкові компоненти культуральної рідини та цитоплазми *B. megaterium* H, *B. subtilis* B-7025 та пептиди курячих ембріонів, які в ІФА-тесті реагують з антитілами сироваток крові тварин із пухлинами різного гістогенезу й антитілами сироваток крові пацієнтів. Встановлено, що з відібраних білкових компонентів для тест-системи найбільшою чутливістю володіють екзогенні метаболіти *B. megaterium* H. Чутливість системи, сконструйованої з їх використанням, становить: близько 90% — для пацієнтів із КРР, 80% — для хворих на РТМ та 65% — для хворих на РМЗ. При виникненні рецидивів КРР, РТМ і РМЗ ці показники були дещо меншими і становили від 70 до 87%.

Висновки. Одержані результати свідчать про перспективність подальшого використання сконструйованої тест-системи для моніторингу перебігу КРР, РТМ і РМЗ у пацієнтів у процесі лікування.

КАНЦЕРОГЕННИЙ РИЗИК ПОЄДНАНОЇ ДІЇ ОПРОМІНЕННЯ ТА ПРЕПАРАТІВ З КО-МУТАГЕННОЮ АКТИВНІСТЮ

Е.А. Двоміна, О.П. Пилипчук

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ
lena.pylypchuk@ukr.net

Вступ. Чільне місце у вирішенні проблеми виникнення пухлин радіаційного генезу має займати визначення ко-мутагенних властивостей деяких препаратів, що можуть суттєво підвищити рівень радіаційно-індукованих пошкоджень шляхом пригнічення процесів репарації. Але досі не створено науково-практичної бази з цією метою. Це зумовлено тим, що ко-мутагени не виявляються при генетичному скринінгу, оскільки самостійно не викликають пошкоджень.

Мета. З урахуванням тривалої радіоекологічної кризи в країні внаслідок Чорнобильської катастрофи актуальним є виявлення ко-мутагенних властивостей деяких фармакологічних препаратів на хромосомному рівні опроміненних клітин людини.

Об'єкт і методи. Виявлення потенційних ко-мутагенів (верапаміл (Вп), аскорбінова кислота (АК)) стосовно формування променевих ефектів (0,3–2,0 Гр) виконували із залученням тест-системи лімфоцитів периферичної крові (ЛПК) умовно здорових осіб і метафазного аналізу хромосомних перебудов. Культивування ЛПК і цитогенетичний аналіз здійснювали відповідно до стандартного протоколу (IAEA, 2011).

Результати. Показано, що препарати АК і Вп не впливають на спонтанний рівень аберацій хромосом в інтактних ЛПК, тобто не проявляють власної мутагенної активності. За умов поєднаної дії іонізуючої радіації в низьких дозах (0,3 Гр) та ко-мутагенів відмічають потенціювання променевого пошкодження клітин. Ко-мутагенні ефекти формувалися за рахунок хромосомних перебудов різних типів, що свідчить про пригнічувальний вплив досліджених препаратів на процеси пострадіаційного відновлення. З підвищенням дози опромінення (до 2,0 Гр) досліджені препарати проявляють ко-мутагенну активність незалежно від їх концентрації, підвищуючи рівень генетичних пошкоджень в опроміненних лімфоцитах. При цьому найбільший ко-мутагенний ефект відзначено при дії АК у терапевтичній концентрації, що маніфестував підвищенням частоти аберацій хромосом на 35%; при дії Вп — 15%. З огляду на онкогенну небезпеку підвищеного рівня хромосомних змін у клітинній популяції розроблений підхід до виявлення ко-мутагенних властивостей хімічних чинників, у тому числі деяких фармакологічних засобів, створює реальну можливість оцінки та прогнозу підвищення канцерогенного ризику за умов їх поєднаної дії з опроміненням в широкому діапазоні доз.

Висновки. Результати дослідження вказують на доцільність контролю призначення препаратів з виявленими ко-мутагенними властивостями при проведенні профілактично-лікувальних заходів у осіб, які мешкають на радіаційно забруднених територіях, та професіоналів, що контактують з відкритими і закритими джерелами іонізуючого випромінювання.

Дослідження проведено в рамках виконання науково-дослідних робіт «Дослідження ролі NO-опосередкованих реакцій в реалізації дії екзогенного оксиду азоту та іонізуючого випромінювання при рості та метастазуванні пухлин» (державна реєстрація від 13.07.2012 р. № 0112U004716).

ВПЛИВ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ОБРОБКИ ЦИРКУЛЮЮЧОЇ КРОВІ НА ПУХЛИННИЙ РІСТ ТА МЕТАСТАЗУВАННЯ

Т.С. Завадська, І.О. Штонь

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ
gamaleia@onconet.kiev.ua*

Вступ. У літературі останніх років з'явилися дані про те, що, крім прямого руйнування пухлини лазерним світлом, терапевтичний ефект може давати внутрішньосудинне опромінення крові, в яку введений фотосенсибілізатор. Є окремі повідомлення про редукцію віддалених метастазів під впливом такої процедури. Механізм феномену залишається невідомим, але є підстави припускати особливу роль світлової альтерації циркулюючих пухлинних клітин.

Мета: з'ясувати ефективність фотодинамічної обробки крові у щурів і мишей з перещепленими пухлинами, використовуючи фотосенсибілізатор Фотолон і його композит із наночастками золота.

Об'єкт і методи. Експерименти проводили на безпородних щурах з інокульованою в мозок гліобластою С6 і мишах лінії С₅₇В1 з перещепленою в стопу карциною Льюїс. Для фотосенсибілізації крові тваринам вводили препарат Фотолон («Белмедпрепарат», Білорусь) або його композит з наночастками золота. Опромінення крові тварин через хвостові вени здійснювали за допомогою напівпровідникового лазера (ПМВП «Фотоніка Плюс», Черкаси) з $\lambda = 660$ нм, максимум поглинання Фотолону, та лампи Phillips з $\lambda = 522$ нм, максимум поглинання наночасток золота. Доза опромінення для обох джерел становила 7,5–15 Дж/см².

Результати. Динаміка виживаності щурів із гліомою в групі тварин, які були піддані фотомодифікації крові, свідчить про сприятливий вплив лікування. Достовірне подовження життя щурів порівняно з контрольною (нелікуваною) групою становило 25,5% в особин, котрим проводили опромінення крові без сенсibilізатора; 81,0% — у групі з фотомодифікацією крові Фотолоном; та 60,0% — у групі тварин із фотомодифікацією крові наноккомпозитом.

Фотодинамічна обробка крові мишей з карциною Льюїс статистично достовірно не впливала на ріст первинних пухлин. Проте дослідження процесу метастазування пухлини на 25-ту добу після її перещеплення засвідчило наявність позитивного ефекту проведеного лікування. У групі тварин, яким перед фотоопроміненням вводили наноккомпозит Фотолону, зареєстровано статистично достовірне зменшення об'єму метастазів.

Висновки. Отримані попередні результати дозволяють констатувати, що фотодинамічна модифікація крові, сенсibilізованої Фотолоном і його композитом із наночастками золота, здатна подовжувати тривалість життя тварин з пухлиною і гальмувати ріст метастазів.

ВПЛИВ ФІТОЕСТРОГЕНІВ НА ПЕРЕБІГ ПУХЛИННОГО ПРОЦЕСУ

О.С. Зотов, О.В. Поступаленко, Р.І. Верещак

*Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, Київ
alena-postupalenko@yandex.ua*

Вступ. Протягом останніх десятиліть зростає споживання сої та її похідних, які є популярною харчовою добавкою. Соя містить понад 100 фітоестрогенів (ФЕ) і є чи не основним джерелом надходження їх в організм людини, особливо у країнах Азії. Швидке зростання частки ФЕ у раціоні сучасної людини та високі показники онкологічної захворюваності визначають потребу у критичній оцінці їхнього потенційного впливу на перебіг пухлинного процесу — як корисного, так і шкідливого.

Мета: дослідити вплив ФЕ на перебіг пухлинного процесу, за даними світової літератури.

Об'єкт і методи. Пошук літератури в мережах PubMed (пошукова комбінація слів — phytoestrogen, tumor microenvironment).

Результати. Розрізняють естрогенний та неестрогенний механізми дії ФЕ на організм людини в цілому та на перебіг пухлинного процесу зокрема. Естрогенний механізм полягає у стимуляції синтезу глобуліну, який зв'язує статеві гормони (sex hormone binding

globulin — SHBG) в печінці та, як результат, у зниженні біодоступності естрогенів. ФЕ здатні до конкурентного зв'язування чи заміщення 17 β -естрадіолу або тестостерону з SHBG у плазмі крові. Їм притаманна здатність пригнічувати 3 α -гідроксистероїддегідрогеназу та 17 β -гідроксистероїддегідрогеназу, які конвертують естрон у більш активну форму — естрадіол. ФЕ є інгібіторами експресії та активності мРНК ароматази та 5 α -редуктази. Вони впливають на кишкову флору, що призводить до зниження реабсорбції естрадіолу. ФЕ належать до слабких естрогенів, їх активність у 100–1000 разів слабша за 17 β -естрадіолу. У жінок з середнім споживанням сої концентрація ФЕ у плазмі крові в 1000 разів перевищує концентрацію ендогенного естрогену у жінок репродуктивного віку з низьким вживанням сої. Найбільш вивченим є вплив ФЕ на рецептори естрогену α та β . Більшість ФЕ є активаторами транскрипції генів через обидва шляхи з більшою спорідненістю до рецепторів естрогену β . Після зв'язування з рецепторами естрогену ФЕ стимулюють два шляхи відповіді: класичний — через елементи (мішені) відповіді до естрогену, альтернативний — через активацію негайних генів, таких як *Jun* і *Fos*. У результаті цього відбувається стимуляція шляхів сигнальної трансдукції, важливої для сигнальної функції нейронів, диференціації клітин тощо.

Неестрогенний механізм дії ФЕ полягає у їх здатності пригнічувати рецептор топоізомерази чи тирозинкінази (інгібітор епідермального фактора росту — epidermal growth factor receptor — EGFR), бути інгібіторами фактора некрозу пухлин α (tumor necrosis factor α — TNF α) та агоністами рецепторів, які активують проліферацію пероксисом (peroxisome proliferator-activated receptors — PPAR). Для ФЕ характерний виражений антиоксидантний і протизапальний ефект.

Висновки. ФЕ притаманні естрогенні та неестрогенні механізми дії із залученням численних молекулярних механізмів. Серед них вагомою є частка таких, що відповідають за процеси проліферації, диференціації та апоптозу.

МОРФОЛОГІЯ ГРАНУЛЯЦІЙНОЇ ТКАНИНИ НАВКОЛО ЕЛЕМЕНТІВ СІТЧАСТОГО ТРАНСПЛАНТАТА ПІСЛЯ ВИКОНАННЯ ПЛАСТИКИ ПЕРЕДНЬОЇ ЧЕРЕВНОЇ СТІНКИ НА ФОНІ ЗЛОЯКІСНОГО ПУХЛИННОГО ПРОЦЕСУ

О.І. Іващук, В.Ю. Бодяка, І.К. Морар

*ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», Чернівці
igor.morar@yandex.ua*

Вступ. У хворих зі злоякісними новоутвореннями органів черевної порожнини існує високий ризик виникнення евітератії та інших небезпечних ускладнень з боку післяопераційної рани, що зумовлено явищами вторинного імунodefіциту, кахексії, анемії тощо. Застосування сітчастих імплантатів з метою попередження зазначених післяопераційних ускладнень певною мірою може вирішити цю проблему, проте відсутні дані щодо репаративної здатності тканин передньої черевної стінки у цієї категорії пацієнтів. Вивчення морфології грануляційної тканини на тлі злоякісного новоутворення дасть змогу більш диференційовано підійти до використання сітчастих імплантатів у хворих онкологічного профілю.

Мета: з'ясувати в експерименті особливості морфології грануляційної тканини навколо елементів сітчастого імплантата м'язово-апоневротичного шару передньої черевної стінки на тлі злоякісного новоутворення м'язових тканин.

Об'єкт і методи. Експеримент виконано на 34 щурах, яким вживлено комбінований сітчастий імплантат у тканини м'язово-апоневротичного шару передньої черевної стінки. Усіх дослідних тварин розподілено на 3 групи. Перша група (контроль) — 8 тварин без пухлини Герена. Друга група (основна) — 12 особин, яким через тиждень після ін'єкції суспензії клітин пухлини Герена під шкіру зовнішньої поверхні стегна імплантовано сітку. Третя група (основна) — 14 щурів, яким після видалення 2-тижневої пухлини Герена імплантовано сітку. Забір біологічного матеріалу проводили на 17–19-ту добу після виконання оперативного втручання. За допомогою комп'ютерної мікроденситометрії проводили визначення середньої дистанції від елементів сітки до зовнішньої межі грануляційної тканини, оптичної густини забарвлення колагенових волокон, питомого об'єму кровонаповнення судин, підрахунок клітин грануляційної тканини, забарвлених гематоксиліном та еозинном, а також водним блакитним хромотропом 2В.

Результати. Наявність в організмі злоякісного новоутворення суттєво пригнічує та сповільнює процеси дозрівання грануляційної тканини навколо елементів сітчастого трансплантата. Виконання пластики передньої черевної стінки із використанням сітчастого імплантата після видалення пухлини призводить до значно гірших результатів дозрівання грануляційної тканини, що доводить вірогідне зменшення площі грануляційної тканини, оптичної густини забарвлених колагенових волокон, а також збільшення кількості клітин, питомого об'єму кровонаповнення судин. Таку особливість необхідно враховувати при пластичці передньої черевної стінки сітчастим імплантатом при виконанні симптоматичних та особливо радикальних оперативних втручань у хворих онкологічного профілю.

Висновки. 1. Наявність злоякісного новоутворення, а також стан після його видалення суттєво зменшують площу грануляційної тканини та одночасно уповільнюють процеси її дозрівання. 2. При виконанні радикальних оперативних втручань відмічають гірше дозрівання грануляційної тканини навколо елементів сітчастого імплантата порівняно з симптоматичними.

МИКРОБИОЛОГІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ІНВАГІНАЦІЙНОГО КІНЦЕБОВОГО ІЛЕОТРАНСВЕРЗОАНАСТОМОЗУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

О.І. Іващук, В.Ю. Бодяка, О.В. Чорний, В.П. Унгурян

ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», Чернівці
olegchornyj@gmail.com

Вступ. Виконання радикальних оперативних втручань на правій половині ободової кишки традиційно супроводжується появою низки несприятливих наслідків, які суттєво погіршують якість життя пацієнтів. Одним із патогенетично значущих компонентів розвитку таких негативних ускладнень є порушення рівноваги якісного та кількісного складу мікрофлори між тонкою та ободовою кишкою, що зумовлено видаленням ілеоцекального відділу. Існуючі інвагінаційні кінцебові тонко-товстокишкові анастомози певною мірою моделюють подібність ілеоцекального клапана, проте вони мають багато недоліків, які обмежують їх широке використання. Нами запропоновано новий кінцебовий ілеотрансверзоанастомоз, який завдяки певним технічним особливостям може допомогти вирішити цю проблему (патент № 85715).

Дослідження в експерименті видового складу та популяційного рівня мікроорганізмів слизової оболонки товстої та тонкої кишки дасть змогу визначити ефективність відновлення мікрофлори кишечника при застосуванні запропонованого ілеотрансверзоанастомозу.

Мета: вивчити в експерименті видовий склад і популяційний рівень мікрофлори тонкої та товстої кишки після виконання резекції ілеоцекального кута, залежно від способу формування ілеотрансверзоанастомозу.

Об'єкт і методи. Експеримент виконано на 24 безпородних собаках, яким зроблено резекцію ілеоцекального кута. Першу групу склали 8 собак, яким накладено ілеотрансверзоанастомоз за Кімбаровським. Другу групу — 7 тварин, яким сформовано ілеотрансверзоанастомоз за Іващук (1997). 9 тваринами третьої групи накладено ілеотрансверзоанастомоз за запропонованою методикою. Збір матеріалу проводили з товстої та тонкої кишки впродовж 1 міс після виконання операції. За контроль взято слизову оболонку перед виконанням резекції ілеоцекального кута. Визначали видовий склад і популяційний рівень мікроорганізмів слизової оболонки товстої та тонкої кишки.

Результати. Виконання резекції ілеоцекального кута призводить до вірогідного зменшення кількості висіяних штамів і популяційного рівня молочнокислих бактерій, а також зростання ентеробактерій як у товстій, так і у тонкій кишці. На 15-ту добу, при формуванні запропонованого анастомозу, кількість висіяних штамів біфідобактерій та ентеробактерій тільки товстої кишки має вірогідну різницю порівняно з контролем; вірогідна різниця кількості колоній біфідобактерій, ентерококів та інших мікроорганізмів проксимального відділу тонкої кишки відсутня. На 30-ту добу після формування запропонованого ілеотрансверзоанастомозу, на відміну від інших, відмічали відсутність вірогідної різниці кількості висіяних штамів усіх мікроорганізмів товстої та тонкої кишки проти контролю. На відміну від інших двох груп, порівняно з контролем зберігається вірогідна різниця популяційного рівня тільки з молоч-

нокислими бактеріями товстої кишки та біфідобактеріями дистального відділу товстої кишки.

Висновок. Застосування запропонованого ілеотрансверзоанастомозу призводить до швидшого, порівняно зі своїми найбільшчими аналогами, відновлення якісного та кількісного складу нормальної мікрофлори кишкового тракту, який на 30-ту добу майже не відрізняється від контрольних показників, за винятком популяційного рівня молочнокислих бактерій товстої кишки.

ОСОБЛИВОСТІ ФІБРИНОЛІТИЧНОЇ ТА ПРОТЕОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ОЧЕРЕВИНИ ЗА ГОСТРОГО ПОШИРЕНОГО ПЕРИТОНІТУ НА ТЛІ РАКУ ОБОДОВОЇ КИШКИ

О.І. Іващук, І.Я. Гуцул

ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», Чернівці
ivangushul@mail.ru

Вступ. Успіх у лікуванні пацієнтів із перитонітом залежить від своєчасної оптимальної хірургічної тактики, в першу чергу — адекватної санації черевної порожнини. Патогенез перитоніту є складним процесом, перебіг якого визначають інфекційна агресія, захисні сили організму, його патологічні реакції на запалення тощо. Проте перитоніт, який виник на тлі злоякісного новоутворення товстої кишки, має низку патогенетичних особливостей, які значно ускладнюють його перебіг і призводять до незадовільних результатів лікування.

Експериментальне вивчення особливостей фібринолітичної та протеолітичної активності очеревини за гострого поширеного перитоніту на тлі злоякісного новоутворення ободової кишки дасть змогу більш раціонально підійти до вирішення питання вибору оптимальної хірургічної тактики.

Мета: вивчити фібринолітичну та протеолітичну активність очеревини після моделювання гострого поширеного перитоніту на тлі раку ободової кишки.

Об'єкт і методи. Експеримент виконано на 36 щурах, яким змодельовано гострий поширений перитоніт шляхом інтраперитонеального введення 30% калової суспензії. Основну групу склали 20 тварин, яким за 2 тиж до моделювання гострого поширеного перитоніту прищеплено пухлину Герена в ободову кишку (патент № 98406). Контрольну групу утворили 16 тварин без раку ободової кишки. Збір біологічного матеріалу (тканина великого чіпця) проводили через 24 та 48 год після моделювання гострого поширеного перитоніту. Досліджували сумарну фібринолітичну активність та протеолітичну активність очеревини, використовуючи кольорогенні сполуки: азоальбумін (лізис низькомолекулярних білків), азоказеїн (лізис високомолекулярних білків) і азокол (лізис колагену).

Результати. Отримані результати вказують на вірогідне переважання сумарної фібринолітичної активності у тварин основної групи на 24-ту добу спостереження. В основній групі щурів відмічали збільшення показників лізису азоальбуміну, азоказеїну та азоколу. Ця різниця вірогідна проти контролю на 48-му добу після моделювання гострого поширеного перитоніту.

Отже, порівняно висока фібринолітична та протеолітична активність очеревини за гострого поширеного перитоніту онкологічного генезу сприяє поганому відмежуванню запального процесу в черевній порожнині, що веде до ширшого розповсюдження ексудату та, відповідно, швидкого розвитку поліорганної недостатності.

Висновок. Виникнення перитоніту на тлі раку ободової кишки характеризується порівняно вищою фібринолітичною та протеолітичною активністю очеревини, що вказує на необхідність розробки нових методів санації та дренування черевної порожнини.

АСОЦІАЦІЯ РІВНЯ ЕКСПРЕСІЇ МІКРОРНК-137 З КЛІНІЧНИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ НЕЙРОБЛАСТОМИ

М.В. Іномістова, Н.М. Храновська, О.В. Скачкова, Г.І. Клишнюк, О.І. Горбач

Національний інститут раку МОЗ України, Київ
m.inomistova@gmail.com

Вступ. Нейробластома (НБ) — злоякісна пухлина симпатичної нервової системи. Захворювання характеризується значною клінічною гетерогенністю — від локалізованих пухлин до поширених форм — та здатністю до раннього гематогенного метастазування. Така суттєва клінічна гетерогенність свідчить про складність геном-

них аномалій, притаманних НБ. p53/MDM2-шлях є часто інактивований при НБ за рахунок різних механізмів і сприяє підвищенню експресії онкогена *MUCN*, що має критичне значення у визначенні клінічного перебігу захворювання. МікроРНК-137 має онкосупресорну дію при НБ, знижуючи активність KDM1A, репресора p53.

Мета: дослідити асоціацію рівня експресії мікроРНК-137 з клінічними характеристиками НБ.

Об'єкт і методи. Біологічним матеріалом слугували зразки пухлинної тканини 75 пацієнтів із верифікованим діагнозом НБ (середній вік: 39,45 ± 4,81 міс, 5,3% — рецидивні пухлини, 9,3% — метастатичні вогнища). Виділення нуклеїнових кислот здійснювали за допомогою NucleoSpin MiRNA, Machery-Nagel (Німеччина). Рівень експресії MDM2 визначали за допомогою полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією з детекцією результатів у режимі реального часу з використанням специфічних TaqMan праймерів і зондів, а мікроРНК-137 — TaqMan MicroRNA Assay, Applied Biosystems (США). Отримані результати нормалізували відносно відповідних контролів. FISH-метод використовували для встановлення ампліфікації гена *MUCN*.

Результати. Ми виявили, що показники експресії мікроРНК-137 широко варіювали залежно від стадії захворювання, статусу онкогена *MUCN* і рівня експресії *MDM2*. Встановлено, що рівень експресії мікроРНК-137 був значно вищим у зразках первинних пухлин порівняно з рецидивними та метастатичними вогнищами ($p < 0,01$). Також визначено достовірно нижчий рівень експресії мікроРНК-137 у зразках пухлин у пізніх стадіях (III, IV) порівняно з ранніми ($p < 0,02$). Зафіксовано значно нижчий рівень експресії мікроРНК-137 у первинних пухлинах з високим рівнем експресії *MDM2* порівняно з пухлинами із низьким рівнем ($p < 0,01$) та в *MUCN* ампліфікованих порівняно з пухлинами без ампліфікації ($p < 0,01$).

За допомогою ROC-аналізу ми встановили прогностичне значення змін експресії мікроРНК-137 при прогресуванні НБ і визначили оптимальний критерій для розподілу пацієнтів ($p < 0,01$, AUC = 0,73). Ми проаналізували безрецидивну виживаність (БРВ) у пацієнтів із НБ і виявили, що низький рівень експресії мікроРНК-137 асоційований зі зниженням показників виживаності. 5-річна БРВ у пацієнтів із високим рівнем експресії мікроРНК-137 була в 3,3 рази вищою порівняно з групою низького рівня експресії (43 і 13% відповідно; $p < 0,02$). За допомогою регресивної моделі Кокса встановлено, що високий рівень мікроРНК-137 може бути фактором прогнозування клінічного перебігу НБ ($p < 0,03$).

Висновки. мікроРНК-137 відіграє важливу роль у прогресуванні НБ. Зниження рівня експресії мікроРНК-137 асоційоване з несприятливими клінічними характеристиками та ризиком виникнення рецидиву захворювання. Разом з іншими клінічними показниками мікроРНК-137 можна використовувати як прогностичний маркер, а також для оптимізації лікування при НБ.

ПОРІВНЯЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ КСЕНОГЕННОЇ ВАКЦИНИ ТА АМІКСИНУ НА РІЗНІ ЛАНКИ ПРОТИПУХЛИННОГО ІМУНІТЕТУ ОПЕРОВАНИХ З ПРИВОДУ МОДЕЛЬНИХ ПУХЛИН МИШЕЙ

О.М. Караман, Н.І. Федосова, І.М. Воейкова, Л.М. Євстрат'єва, Г.В. Діденко, Г.П. Потєбня

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ
immunomod@ukr.net

Вступ. Залишається актуальним пошук нових методів, які б підвищували ефективність традиційного лікування хворих онкологічного профілю або зменшували вираженість його негативних наслідків. Одним із напрямів вирішення цієї проблеми є використання в схемах протипухлинної терапії методів імунотерапії, зокрема протипухлинних вакцин, цитокінів або їхніх ендогенних індукторів тощо.

Мета: дослідити вплив комбінованого застосування виготовленої в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України протипухлинної ксеногенної вакцини (КсВ) та аміксину на показники протипухлинного імунітету оперованих з приводу меланоми В-16 або карциноми легені Льюїс (КЛЛ) мишей.

Об'єкт і методи. Досліди проводили на мишах лінії $C_{57}Bl/6$ віком 2–2,5 міс. КсВ виготовляли з ембріональної нервової ткани-

ни шурів і білоквмісного метаболіту *B. subtilis B-7025* з м.м. 70 кДа. Субстанція аміксину надана співробітниками Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України (Одеса). Клітини меланоми В-16 або КЛЛ вводили в стопу правої задньої кінцівки по $2,5 \cdot 10^5$ клітин/0,05 мл. Аміксин готували *ex tempore* і вводили *per os* у разовій дозі 0,06 мг/мишу (3 мг/кг) на 14; 15-ту та 17-ту добу пухлинного росту. На 18-ту добу стопу з пухлиною видаляли, а через 3 доби вводили КсВ (підшкірно, триразово, [С] = 0,09 мг/тварину на 1 ін'єкцію) з подальшою двократною ревакцинацією. Було сформовано групи: 1-ша — інтактні миші; 2-га — прооперовані неліковані миші («КП»); 3-тя — миші, які отримували аміксин («Аміксин»); 4-та — миші, які отримували КсВ («КсВ»); 5-та — миші, які отримували аміксин і КсВ («Аміксин + КсВ»). Імунологічне обстеження тварин проводили на 4-ту; 18-ту, 32-ту та 37-му добу після операції. Визначали такі показники: вагові та клітинні параметри імунокомпетентних органів; цитотоксичну активність природних клітин-кілерів (ПКК), цитотоксичних Т-лімфоцитів (ЦТЛ), макрофагів (МФ), сироваток крові (СК) в МТТ-тесті; рівень у СК і супернатантах (Сн) спленоцитів про- та протизапальних цитокінів (ІЛ-1, ФНП, ІФН- γ , ІЛ-4, ІЛ-10) методом ІФА, а також співвідношення ІФН/ІЛ-4 (як показник спрямованості формування імунних реакцій за Тх1- чи Тх2-типом). Антиметастатичний ефект КсВ та аміксину оцінювали за індексом інгібіції метастазування (ІМ).

Результати. Антиметастатична ефективність аміксину та КсВ залежала від типу модельної пухлини. У оперованих з приводу меланоми В-16 мишей частота метастазування була найнижчою у групі «КсВ» (ІМ — 99%, $p < 0,05$ порівняно з КП), у оперованих з приводу КЛЛ — у групі «Аміксин + КсВ» (ІМ — 98,7%).

На моделі меланоми В-16 більш виражений позитивний вплив на показники активності клітин-ефекторів лімфоїдної та моноцитарної/макрофагальної ланки спостерігали при введенні КсВ у монорежимі. У мишей групи «КсВ», починаючи з 18-ї доби після операції, була суттєво підвищеною цитотоксична активність ПКК і ЦТЛ, а на 37-му добу — і МФ. Специфічна цитотоксичність СК залишалася підвищеною протягом усього терміну спостереження, а її додавання до аутологічних МФ підвищувало цитотоксичність останніх у віддалені терміни. Про збереження активності клітин моноцитарно-макрофагального ряду свідчить і достовірно збільшений (протягом усього терміну спостереження) у Сн вакцинованих мишей вміст ФНП. Введення КсВ призводило до достовірного підвищення в СК вмісту ІФН- γ та запобігало різкому підвищенню ФНП; співвідношення ІФН/ІЛ-4 перевищувало показники груп «КП» та «КП» в 6,0 та 12,3 рази відповідно. Застосування КсВ у поєднанні з аміксином або введення аміксину в монорежимі не забезпечувало тривалого активуючого впливу на досліджувані ефектори протипухлинного імунітету, який спостерігали у мишей групи «КсВ».

У оперованих з приводу КЛЛ мишей найбільший позитивний вплив на досліджувані імунологічні показники відзначали лише в групі «Аміксин + КсВ». Відмічали достовірне підвищення цитотоксичної активності МФ, ПКК, ЦТЛ у ранні терміни спостереження та специфічної цитотоксичної активності СК протягом усього терміну. Поєднане застосування аміксину та КсВ запобігало (порівняно з групою «КП») достовірно підвищенню рівнів у СК ІЛ-4 та ІЛ-10, співвідношення ІФН/ІЛ-4 було на рівні інтактних тварин протягом усього терміну спостереження.

Висновки. Отримані дані свідчать, що за умов видалення меланоми В-16 більш ефективним є застосування протипухлинної КсВ у монорежимі, в той час як при видаленні КЛЛ ефективнішим є поєднання доопераційного введення аміксину з післяопераційною вакцинотерапією.

РІВЕНЬ ЕКСПРЕСІЇ ПРОТЕЇНКАЗИ PKD2 У ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИНАХ ШЛУНКА КОРЕЛЮЄ ІЗ РОЗПОВСЮДЖЕНІСТЮ ПУХЛИННОГО ПРОЦЕСУ

Л.М. Ковалевська, Л.М. Шлапацька, І.М. Гордієнко, А.В. Ковельська, С.П. Осинський, С.П. Сидоренко

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ
Kreyll@yahoo.com

Вступ. Протеїнкази родини PKD задіяні в регуляції процесів проліферації та програмованої смерті клітин і активуються ростовими факторами при антигенній стимуляції та оксидативному стресі клітин, що зазвичай спостерігається при прогресу-

ванні злоякісних новоутворень. У результаті експериментальних модельних досліджень раніше було отримано низку свідчень, що при раку шлунка (РШ) протеїнкіназа PKD1 виступає супресором, а PKD2 — промотором пухлинного росту (М. Kim et al., 2008; М. Shabelnik et al., 2011). Водночас ще не проведено трансляційні дослідження рівня експресії цих протеїнкіназ у первинних пухлинах шлунка з урахуванням агресивності пухлин та їхнього метастатичного потенціалу, а також розповсюдженості процесу.

Мета: провести аналіз експресії PKD1 та PKD2 на рівні білка у зразках РШ та умовно нормальних тканинах шлунка з урахуванням розповсюдженості пухлинного процесу та перебігу захворювання.

Об'єкт і методи. Операційний матеріал (первинні пухлини, умовно нормальна слизова оболонка шлунка тих самих хворих), морфологічні, біохімічні та статистичні методи.

Результати. Дослідження експресії протеїнкіназ PKD1 та PKD2 на рівні білка були проведені на колекції парних зразків пухлин та умовно нормальної слизової оболонки шлунка з урахуванням розповсюдженості пухлинного процесу та перебігу захворювання. Показано, що рівень експресії PKD2 у злоякісних пухлинах шлунка є значно вищим за рівень експресії цієї кінази в умовно нормальній слизовій оболонці шлунка. Встановлено, що рівень експресії PKD2 у злоякісних пухлинах шлунка корелює із розповсюдженістю і стадією пухлинного процесу, зокрема з наявністю метастазів. У зразках аденокарцином ІV стадії та перснеподібно-клітинного РШ виявлено найвищий рівень експресії PKD2. Найнижчий рівень експресії PKD2 визначено у зразках аденокарцином ІІ–ІІІ стадії без наявних уражень лімфатичних вузлів і метастазів. Однак аденокарциноми ІІ та ІІІ стадії, що не мали метастазів і пухлинних клітин у лімфатичних вузлах, експресували PKD1, але не PKD2.

Висновки. Отримані результати свідчать, що рівень експресії PKD2 у злоякісних пухлинах шлунка корелює із розповсюдженістю пухлинного процесу, зокрема з наявністю метастазів. Високий рівень експресії PKD2 є характерним для розповсюдженого процесу, а саме за наявності метастазів і ІV стадії захворювання, а відсутність експресії PKD2 у пухлинах відзначають при N₀₍₁₎ M₀ і ІІ–ІІІ стадії без наявних уражень лімфатичних вузлів і метастазів. Таким чином, виявлення експресії PKD2 може бути використано як потенційний маркер для оцінки розповсюдженості процесу та перебігу захворювання.

Роботу виконано за підтримки комплексної міждисциплінарної програми наукових досліджень НАН України «Фундаментальні основи молекулярних та клітинних біотехнологій» № 01110U005757.

БІЛОК-ХОМІНГ CXCR4 У ПУХЛИНІ І КІСТКОВОМУ МОЗКУ ХВОРИХ НА РАК ШЛУНКА ТА ДИСЕМІНАЦІЯ ПУХЛИННИХ КЛІТИН

А.В. Ковельська¹, Л.М. Бубновська¹,
С.П. Меренцев², С.П. Осинський¹

¹Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

²Київський міський клінічний онкологічний центр МОЗ України, Київ
kovelskaya@ukr.net

Вступ. Відомо, що пухлинні клітини можуть міститися у кістковому мозку (КМ) навіть у хворих із категорією M₀. На сьогодні CXCR4 розглядають як білок-хомінг, що бере участь у міграції пухлинних клітин до місць віддаленого метастазування з подальшим утворенням метастазів. Визначення ролі CXCR4 у дисемінації пухлинних клітин, формуванні передметастатичної ніші, пошук факторів, які контролюють «сплячий» стан пухлинних клітин у КМ — ось першочергові завдання онкологічних досліджень.

Мета: визначити асоціацію між наявністю дисемінованих пухлинних клітин (ДПК) у КМ і CXCR4+ клітинами у пухлинній тканині та у КМ хворих на рак шлунка (РШ), а також їхнє значення для оцінки клінічного перебігу РШ.

Об'єкт і методи. З використанням імуногісто- та імуноцитохімічних методів досліджено 72 хворих на РШ. Усі обстежені були попереджені про дослідження та дали свою згоду на участь у його проведенні. Для статистичного аналізу даних використовували пакет прикладних програм NCSS 2000/PASS 2000 та Prism, version 4.0.

Результати. CXCR4+ клітини у пухлинній тканині хворих на РШ були виявлені у 77,9% осіб. Встановлено, що у 80% пацієн-

тів з CXCR4+ клітинами у пухлині виявляють ДПК. Середня кількість CXCR4+ клітин у пухлині становила 38,4 ± 2,73%. Виявлено кореляції між кількістю CXCR4+ клітин у пухлині та рівнем гіпоксії (PME/Pi) (r = 0,492; p < 0,05), кількістю VEGF+ клітин (r = 0,337; p < 0,01) і рівнем лактату у пухлині (r = 0,434; p < 0,05). Показано, що загальна виживаність (ЗВ) значно краща у пацієнтів з пухлинами, у яких не виявлялися CXCR4+ клітини, порівняно з пацієнтами з CXCR4+ пухлинами (log rank test: p = 0,0375). ЗВ хворих категорії M₀, у яких не виявлено CXCR4+ клітин, значно краща порівняно з пацієнтами категорії M₀, але з CXCR4+ пухлинами (log rank test: p = 0,0137). Показано, що у хворих із CXCR4+ пухлинами ризик несприятливого перебігу раку зростає у 2,82 раза (HR = 2,82; 95% CI 1,162–6,832; p < 0,05). CXCR4+ клітини у КМ виявлено у 46,4% всіх хворих та у 55,8% пацієнтів із ДПК. Серед осіб з категорією M₀ CXCR4+ клітини у КМ визначені у 63,6% хворих з наявністю ДПК у КМ. Показано, що ЗВ краща у пацієнтів, у яких у КМ не зафіксовано CXCR4+ клітин, порівняно з хворими, у яких були CXCR4+ клітини у КМ (log rank test: p = 0,0417). Встановлено, що ЗВ хворих із категорією M₀, у яких у КМ не виявляли CXCR4+ клітин, була вищою порівняно з пацієнтами з категорією M₀, у КМ яких зафіксовано CXCR4+ клітини, хоча асоціація статистично недостовірна (log rank test: p = 0,088). Показано, що ризик несприятливого перебігу процесу у хворих із M₀ зростає в 3,5 раза (HR = 3,47; 95% CI 1,156–12,054; p < 0,03) за наявності CXCR4+ клітин у КМ.

Висновки. Встановлено пряму кореляцію між кількістю CXCR4+ клітин у пухлині з рівнем її гіпоксії, а також з декимми гіпоксіяасоційованими показниками. Наявність CXCR4+ клітин у пухлині та КМ асоційована з наявністю ДПК у КМ і поганого ЗВ хворих на РШ, що підтверджує функцію CXCR4 як білка-хомінгу. Велика кількість CXCR4+ клітин у пухлині та у КМ є фактором ризику несприятливого перебігу захворювання.

CD8+ ТА CD45RO+ Т-ЛІМФОЦИТИ У КІСТКОВОМУ МОЗКУ ХВОРИХ НА РАК ШЛУНКА ТА ПЕРЕБІГ МІНІМАЛЬНОЇ ЗАЛИШКОВОЇ ХВОРОБИ

А.В. Ковельська¹, Л.М. Бубновська¹, Д.С. Осинський²,
С.П. Осинський¹

¹Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

²Київський міський клінічний онкологічний центр МОЗ України, Київ
kovelskaya@ukr.net

Вступ. Проблема мінімальної залишкової хвороби (МЗХ) при солідних пухлинах нині є однією з центральних у дослідженнях експериментальної та особливо клінічної онкології. Доведено, що дисеміновані пухлинні клітини (ДПК) на ранній стадії раку негативно впливають на перебіг захворювання та результат лікування. Раніше нами показано, що ДПК виявляють у 57,3% хворих, у тому числі при M₀ — у 51,4% (Бубновська та ін., 2014).

Мета: визначити асоціацію між наявністю ДПК та CD8+ і CD45RO+ Т-лімфоцитами у кістковому мозку (КМ) хворих на рак шлунка (РШ), а також їх значення для оцінки клінічного перебігу МЗХ при РШ.

Об'єкт і методи. Досліджено зразки КМ у 103 хворих на первинний РШ із використанням імуноцитохімічного методу. Усі обстежені були попереджені про дослідження та дали свою згоду на участь у його проведенні. Для статистичного аналізу даних використовували пакет прикладних програм NCSS 2000/PASS 2000 та Prism, version 4.0.

Результати. CD8+ та CD45RO+ клітини у КМ виявлено у 81,0 та 81,8% хворих відповідно; за наявності ДПК у КМ кількість пацієнтів із CD8+ та CD45RO+ клітинами у КМ становила 86,7 та 83,9% відповідно. При цьому кількість хворих із CD8+ і CD45RO+ клітинами у КМ при категорії M₀ та наявності ДПК у КМ сягала 86,7 та 85,1%, а кількість таких пацієнтів із категорією M₁ — 85,9 та 80,6% відповідно. Хворі на РШ, у яких виявляли CD8+ і CD45RO+ клітини у КМ, продемонстрували кращу загальну виживаність (ЗВ), ніж пацієнти, у КМ яких ці клітини не зафіксовано (log rank test: p = 0,0343 та p = 0,0235 відповідно). Встановлено, що ЗВ хворих із наявністю ДПК і CD8+ Т клітинами у КМ була значно кращою порівняно з пацієнтами, у яких були наявні ДПК, але не виявлено CD8+ Т клітин у КМ (log rank test: p = 0,0226). Таку саму

ЛАКТАЦИДОЗ СПРИЯЄ ВИЖИВАННЮ ПУХЛИННИХ КЛІТИН В УМОВАХ ДЕФІЦИТУ ГЛЮКОЗИ

Д.Л. Колесник, О.М. Пяковська, Г.І. Солянник

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ
deniskol@mail.ru

Вступ. Загальновідомо, що основною властивістю пухлинного мікроочотчення є лактацидоз — ацидоз, спричинений надмірним вмістом молочної кислоти, який, як вважають, робить свій внесок у несприятливий прогноз пухлинного захворювання та резистентність до хіміотерапії. Останнім часом з'являється все більше доказів того, що лактацидоз здатний сприяти виживанню пухлинних клітин за несприятливих умов і при впливі хіміопрепаратів.

Мета: дослідити вплив лактацидозу на виживання клітин карциноми легені Льюїса за умов дефіциту глюкози.

Об'єкт і методи. У роботі використовували низькометастатичний варіант клітин карциноми легені Льюїса LLC/R9. Клітини інкубували в поживному середовищі, яке відтворювало умови лактацидозу на фоні дефіциту глюкози ($3,0 \pm 0,1$ мМ глюкози, $14,0 \pm 0,7$ мМ лактату, рН 6,7) та умови власне дефіциту глюкози ($3,0 \pm 0,1$ мМ глюкози, $1,6 \pm 0,1$ лактату, рН 7,4), протягом 7 дб без заміни середовища інкубації. Рівень глюкози в середовищі визначали за допомогою глюкозооксидазного методу; вміст активних форм кисню вимірювали з використанням діацетату 2,7-дихлоридгидрофлуоресцеїну; кількість апоптотичних клітин визначали за допомогою барвника Hoechst 33258; кількість лізосом у клітинах оцінювали флуориметричним методом за допомогою монодансилкадаверину.

Результати. Встановлено, що лактацидоз на фоні дефіциту глюкози призводить до зменшення кількості живих клітин на 33% ($p < 0,05$) на 1-шу добу їх інкубації, яке компенсувалося майже 1,5-кратним перевищенням ($p < 0,05$) їх кількості вже на 2-гу добу порівняно з відповідними показниками за умов власне дефіциту глюкози. Навіть у віддалені строки, на 7-му добу інкубування, кількість клітин, які вижили за умов лактацидозу, в 1,5 рази ($p < 0,05$) перевищувала таку при власне дефіциті глюкози. Швидкість споживання глюкози клітинами за умов лактацидозу знижувалася в 2 рази ($p < 0,05$) порівняно з аналогічним показником за умов власне дефіциту глюкози ($0,16 \pm 0,01$ та $0,33 \pm 0,002$ мкМ/(млн клітин · год) відповідно). Відсоток апоптотичних клітин за умов лактацидозу був значно нижчим протягом усіх 7 дб інкубування порівняно з таким за умов власне дефіциту глюкози (зокрема, на 2-гу добу — $8,5 \pm 0,9\%$ проти $24,6 \pm 0,6\%$). Рівень активних форм кисню у клітинах за умов лактацидозу був вищим більше ніж утричі ($p < 0,05$), порівняно з умовами власне дефіциту глюкози. Цікаво, що на тлі лактацидозу кількість лізосом у клітинах, яка, як відомо, відображає їхню здатність до аутофагії, в перші дні інкубування була вдвічі нижчою ($p < 0,05$), тоді як на 7-му добу багаторазово ($p < 0,05$) зростала, на відміну від цього показника за умов власне дефіциту глюкози.

Висновки. Лактацидоз на фоні дефіциту глюкози суттєво сприяє виживанню клітин карциноми легені Льюїса LLC/R9. Виживаність пухлинних клітин асоціювалася зі зменшенням швидкості споживання глюкози цими клітинами, а також їхньою здатністю до вираженої активізації аутофагії на пізніх строках інкубування.

ПРОТИЗАПАЛЬНІ ЕФЕКТИ ІНГІБОРУ ПРОТЕЇНКІНАЗ ПОХІДНОГО ПІРОЛУ З ПРОТИПУХЛИННОЮ АКТИВНІСТЮ

Г.М. Кузнєцова, М.С. Єна, І.П. Котляр, О.В. Линчак, В.К. Рибальченко

Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, Київ
biophys@gmail.com

Вступ. У попередніх дослідженнях на моделях *in vitro* (лінії аденокарциноми товстої кишки людини COLO205, SW-620) та *in vivo* (1,2-ДМГ-індукований рак товстої кишки шурів) було встановлено протипухлинну активність похідного піролу 1-(4-СІ-бензил)-3-СІ-4-(СF₃-феніламіно)-1Н-пірол-2,5-діону (MI-1) — інгібітору протеїнкіназ EGFR, VEGFR, IGF1R, Src, PDK1, гіперекспресія яких виникає за умов колоректального раку людини. Відомо, що EGFR та IGF1R активують сигнальні шляхи PI3K/Akt і далі — NF- κ B. EGFR також здатен активувати сигнальний шлях Jak/STAT. PDK1 та Src

асоціацію відзначено для CD45RO⁺ Т клітин у КМ, але вона статистично недостовірна (log rank test: $p = 0,0537$). ЗВ пацієнтів із категорією M₀ також була кращою у випадках, коли CD8⁺ і CD45RO⁺ Т клітини були наявні у КМ, але така залежність статистично недостовірна (log rank test: $p = 0,0538$ і $p = 0,0862$ відповідно).

Висновки. Виявлено взаємозв'язок між наявністю ДПК і вмістом CD8⁺ та CD45RO⁺ Т-лімфоцитів у КМ. Можна припустити, що дисемінація пухлинних клітин у КМ не пов'язана з наявністю й активністю CD8⁺ і CD45RO⁺ клітин у КМ, але вірогідно, що ці Т-клітини детермінують майбутню поведінку ДПК. При цьому CD8⁺ і CD45RO⁺ Т-лімфоцити у КМ асоційовані з кращою ЗВ. Одержані дані дозволяють припустити, що ДПК у КМ перебувають у «сплячому» стані завдяки контролю з боку Т-клітин (CD8⁺ та CD45RO⁺).

ПУХЛИНО-ІНФІЛЬТРУЮЧІ ЛІМФОЦИТИ: ЗВ'ЯЗОК З ДИСЕМІНОВАНИМИ ПУХЛИННИМИ КЛІТИНАМИ ТА ПЕРЕБІГОМ ЗАХВОРЮВАННЯ У ХВОРИХ НА РАК ШЛУНКА

А.В. Ковельська¹, Л.М. Бубновська¹, Д.С. Осинський², С.П. Осинський¹

¹Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

²Київський міський клінічний онкологічний центр МОЗ України, Київ
kovelskaya@ukr.net

Вступ. Однією з найскладніших проблем сучасної онкології є проблема прихованих або «сплячих» пухлинних клітин (мікрометастазів) у хворого після радикального видалення пухлини чи проведеного хіміо- та/або променевого лікування на фоні відсутності віддалених метастазів, підтверджених традиційними методами діагностики, — тобто мінімальною залишковою хвороби (МЗХ). Водночас практично відсутні дані щодо ролі пухлинного мікроочотчення у появі, поведінці та подальшій долі дисемінованих пухлинних клітин (ДПК) у кістковому мозку (КМ).

Мета: визначити асоціацію між наявністю ДПК у КМ та CD8⁺ і CD45RO⁺ Т клітинами у пухлинній тканині хворих на рак шлунка (РШ), а також їхнє значення для оцінки клінічного перебігу захворювання при РШ.

Об'єкт і методи. Досліджено 98 хворих на первинний РШ з використанням імуногістохімічного методу. Усі обстежені були попереджені про дослідження та дали свою згоду на участь у його проведенні. Для статистичного аналізу даних використовували пакет прикладних програм NCSS 2000/PASS 2000 та Prism, version 4.0.

Результати. Встановлено кореляцію між кількістю CD8⁺ та кількістю CD45RO⁺-клітин у пухлині ($r = 0,319$; $p = 0,017$), кількістю CD8⁺- і CD45RO⁺-клітин і кількістю VEGF⁺-клітин у пухлині ($r = 0,223$; $p = 0,031$ та $r = 0,228$; $p = 0,039$ відповідно), кількістю CD45RO⁺ та кількістю Flt⁺ клітин у пухлині ($r = 0,219$; $p = 0,041$). Показано, що CD8⁺ та CD45RO⁺ клітини у пухлинній тканині хворих на РШ виявлено у 79,2 та 84,9% випадків відповідно. Середня кількість CD8⁺ і CD45RO⁺ клітин у пухлині становила $36,8 \pm 3,1$ та $40,1 \pm 2,9\%$ відповідно. Встановлено, що за наявності ДПК у КМ хворих кількість CD8⁺ та CD45RO⁺ клітин у пухлині сягала 24,1 і 16,9%; за відсутності ДПК у КМ — 71,8 та 41,1% відповідно ($p < 0,05$). Визначено, що кількість ДПК у КМ пацієнтів із РШ збільшується в 2,9 рази (95% СІ 1,13–7,42; $\chi^2 = 5,06$; $p < 0,05$) і в 3,2 рази (95% СІ 1,10–9,29; $\chi^2 = 4,15$; $p < 0,05$), коли пухлини характеризуються зменшеною кількістю CD8⁺ і CD45RO⁺ Т клітин відповідно. Встановлено, що загальна виживаність була значно кращою у хворих, у яких пухлини характеризувалися великою кількістю CD8⁺ і CD45RO⁺ Т клітин порівняно з пацієнтами, в пухлинах яких налічується мала кількість CD8⁺ і CD45RO⁺ клітин (log rank test: $p = 0,042$ і $p = 0,004$ відповідно).

Висновки. Велика кількість CD8⁺ та CD45RO⁺ Т лімфоцитів у пухлині зворотно корелює з наявністю ДПК у КМ і кращою виживаністю хворих. Значна кількість CD8⁺ та CD45RO⁺ клітин у пухлині є фактором сприятливого перебігу захворювання. Отримані дані можуть свідчити про можливість вважати клінічно значущою кількість CD8⁺ та CD45RO⁺ Т лімфоцитів прогностичним фактором у пацієнтів із категорією M₀, а саме без віддалених метастазів, що, ймовірно, є важливішим, ніж для хворих із категорією M₁.

є ключовими ефекторами шляху PI3K/Акт. Наслідком активації цих сигнальних шляхів, окрім індукції проліферації та виживання, є прозапальний ефект. Загальновідомою є також роль запалення та оксидативного стресу в ініціації та прогресії пухлинного росту та їхній тісний взаємозв'язок. Тому ми припустили наявність протизапальних властивостей MI-1 як інгібітору вищенаведених протеїнінів.

Мета: дослідити протизапальні та антиоксидантні ефекти MI-1 на моделі виразкового коліту щурів, що за умов хронічного перебігу передують розвитку колоректальних пухлин.

Об'єкт і методи. Виразковий коліт індукували двократним ректальним введенням 1 мл 4% оцтової кислоти з інтервалом 1 тиж. MI-1 (2,7 мг/кг) та преднізолон (0,7 мг/кг), обраний як препарат порівняння, вводили протягом 14 дб щоденно. Аналізували стан слизової оболонки на макро- та світлооптичному рівні на наявність ознак запалення, оцінювали рівні ТБК-позитивних продуктів, карбонільних груп (КГ) білків, активність супероксиддисмути (СОД) і каталази у гомогенаті слизової оболонки товстої кишки як показників окисно-відновного стану останньої.

Результати. За умов коліту виявлено тріщини та невеликі виразки на внутрішній поверхні товстої кишки, ознаки запалення у вигляді набряку, лімфоїдної та гістіоцитарної інфільтрації та крововиливів у власній пластинці та підслизовій основі слизової оболонки, зростання кількості ТБК-позитивних продуктів (на 89%) та КГ білків (на 60%) і зниження активності СОД (на 40%) у її гомогенаті. Преднізолон сприяв зникненню виразок та набряку слизової оболонки і наближенню до норми значень активності СОД і каталази, проте рівні ТБК-позитивних продуктів і КГ білків залишалися підвищеними відносно контролю (на 52 та 42% відповідно). Ознаки запалення слизової оболонки у вигляді лімфоїдної та гістіоцитарної інфільтрації також зберігалися. MI-1 сприяв відновленню цілісності слизової оболонки, зменшенню запалення до поодиноких скупчень лімфо- і гістіоцитів у підслизовій, наближенню до норми активності СОД, каталази, рівнів ТБК-позитивних продуктів і КГ білків.

Висновки. MI-1 виявляє протизапальний ефект за умов індукованого запалення товстої кишки та сприяє нормалізації її окисно-відновного балансу. Протизапальні та антиоксидантні ефекти преднізолону за цих умов є значно менш вираженими. Протизапальні ефекти глюкокортикоїдів реалізуються через пригнічення синтезу простагландинів внаслідок інгібування фосфоліпази А2 і меншою мірою — через інгібування СОХ-2. Водночас ефекти інгібітору протеїнінів MI-1 на сигнальні шляхи запалення є множинними, що, імовірно, зумовлює його більш виражений та комплексний вплив на процеси запалення. Отже, MI-1 є перспективною сполукою для корекції пухлинного та запального процесу внаслідок множинних механізмів дії.

ІМУНОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ В МОНІТОРИНГУ ЕФЕКТИВНОСТІ АД'ЮВАНТНОЇ ІНТЕРФЕРОНОТЕРАПІЇ ХВОРИХ НА МЕЛАНОМУ ШКІРИ

С.М. Кукушкіна, Ф.В. Фільчаков, К.С. Шуміліна, Г.Д. Льон, С.І. Коровін, М.М. Кукушкіна

Національний інститут раку МОЗ України, Київ
labklimmun@i.ua

Вступ. У хворих на меланому шкіри (МШ) навіть локалізованій формі в 20% випадків виявляють мікрометастази в регіонарних лімфатичних вузлах, що актуалізує вирішення проблеми зниження ризику розвитку рецидиву захворювання після хірургічного висічення первинної пухлини. Стандартом профілактичного лікування хворих на первинно-локалізовану МШ є інтерферонотерапія (ІФН-терапія). Проте показання до ІФН-терапії досі не встановлені, а її призначення всім хворим є предметом дискусій. Одним із напрямів оптимізації лікування пацієнтів із МШ є персоналізація терапії з урахуванням прогностичних факторів, визначення яких дозволить прогнозувати відповідь на ІФН-терапію та перебіг захворювання.

Мета: визначити імунологічні критерії прогнозу прогресування захворювання на тлі ІФН-терапії у хворих на МШ для оптимізації комбінованого лікування.

Об'єкт і методи. У дослідження включено 40 хворих на МШ у ІВ–ІІС стадії, які отримали ад'ювантний курс $\alpha 2b$ -ІФН (підшкірно по 3 млн МО 3 рази на тиждень протягом 12 міс). Зразки крові досліджували через 8–10 днів після хірургічного лікування та через 3 міс від початку курсу $\alpha 2b$ -ІФН. Вивчали вміст основних

популяцій лімфоцитів периферичної крові (ЛПК) ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD19^+$, $CD16^+$), регуляторних Т-клітин, активованих ЛПК ($CD25^+$, $CD4^+25^+$, $HLA-DR^+$, $CD95^+$) та функціональну активність ЛПК. Виникнення рецидиву протягом першого року після видалення первинної пухлини розцінювали як несприятливий перебіг захворювання, відсутність — як сприятливий.

Результати. Виявлено, що вміст лімфоцитів та їх популяцій у периферичній крові хворих не зазнає суттєвих змін протягом перших 3 міс ІФН-терапії та не залежить від її ефективності. Аналіз вмісту активованих ЛПК показав, що через 3 міс від початку ІФН-терапії у пацієнтів зі сприятливим перебігом захворювання зростає відсоток $HLA-DR^+$ -лімфоцитів, а у хворих з прогресуванням пухлинного процесу зменшується абсолютна кількість $CD25^+$ -лімфоцитів. Проте згідно з результатами кореляційного аналізу лише вміст $CD25^+$ -клітин суттєво пов'язаний із розвитком метастазів МШ ($r = -0,325$, $p < 0,05$). Зміни показників цитотоксичної та проліферативної активності ЛПК упродовж перших 3 міс ІФН-терапії не залежать від особливостей перебігу захворювання, але у пацієнтів із прогресуванням хвороби відзначають зростання здатності лімфоцитів продукувати фактор, що гальмує міграцію лейкоцитів, а у хворих зі сприятливим перебігом захворювання цей показник залишається на сталому рівні ($r = 0,451$; $p < 0,05$).

Висновки. Моніторинг динаміки імунологічних показників у процесі комбінованого лікування пацієнтів із МШ дозволяє виявляти загрозу прогресування захворювання до появи клінічних ознак. Лабораторними критеріями прогнозу несприятливого перебігу пухлинного процесу в перші 3 міс ад'ювантної ІФН-терапії хворих на локалізовану МШ є зменшення абсолютної кількості $CD25^+$ -лімфоцитів у циркуляції та пригнічення здатності ЛПК продукувати фактор, що інгібує міграцію лейкоцитів *in vitro*.

ВМІСТ ПУХЛИННИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН У НОВОУТВОРЕННЯХ ЦНС РІЗНОГО СТУПЕНЯ ЗЛОЯКІСНОСТІ

М.І. Лісяний, Л.М. Бельська

ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України», Київ
adsg@ukr.net

Вступ. Останнім часом велику увагу надають вивченню клітин, які виділяються з пухлин та мають властивості стовбурових, що, можливо, надасть нове розуміння природи пухлини, прогнозування перебігу захворювання, причин неефективності різних методів лікування. Дані, отримані за останні роки, показали наявність пухлинних стовбурових клітин (ПСК) у пухлинах товстої кишки, молочної залози, підшлункової залози, печінки, легень, в мезенхімальних пухлинах і пухлинах головного мозку (гліомах, медулобластомах, епендімомах тощо) та експресію на поверхні ПСК різних фенотипічних маркерів, зокрема CD133. Проте питання залежності між вмістом ПСК і ступенем злоякісності пухлин залишається дискусійним.

Мета: вивчити вміст $CD133^+$ клітин у пухлинах центральної нервової системи (ЦНС) різного ступеня злоякісності.

Об'єкт і методи. Біоптати 51 пухлини різного генезу, отримані у хворих під час нейрохірургічних операцій. Гістологічну діагностику пухлин головного мозку проводили відповідно до Міжнародної гістологічної класифікації пухлин ЦНС (Louis D.N., 2007). Вивчення фенотипу клітин здійснювали імунофлуоресцентним методом за допомогою МКАТ до молекул CD133 (маркер стовбурових клітин) за протоколом цитофлуориметрії FACS Calibur на проточному цитофлуориметрі Vecton Culter.

Результати. Встановлено, що кількість $CD133^+$ клітин в усіх зразках гліобластом та анапластичних астроцитом, що досліджувалися, перевищувала 3% і становила в середньому $9,61 \pm 6,83\%$ у зразках гліобластом та $10,98 \pm 5,58\%$ — у зразках анапластичних астроцитом. У доброякісних гліомах (дифузно-протоплазматичні астроцитоми) вміст $CD133^+$ клітин перевищував 3% у 67,4% випадків та в середньому був удвічі меншим за відповідні показники злоякісних гліом. У медулобластомах у 100% випадків кількість $CD133^+$ клітин перевищувала 3% і становила 3,9–18,7%. Вміст $CD133^+$ клітин у біоптатах менінгіом перевищував 3% у 77,7% випадків та в середньому сягав $7,96 \pm 5,23\%$.

Висновки. У результаті проведених досліджень встановлено, що при злоякісному перебігу пухлинного процесу в ЦНС, зокрема

при гліомах III і IV ступеня злоякісності та медулоблостомах, у тканині пухлин визначається підвищення вмісту CD133⁺ стовбурових клітин, які можуть сприяти прогресуванню пухлини (Dalerba P., 2007) і метастазуванню (Wicha M.S., 2006, Sheridan C., 2006) та зумовлювати хіміо- та радіорезистентність. Подальше дослідження цієї популяції клітин і розробка нових засобів блокування або направленого впливу на ПСК сприятиме поліпшенню лікування нейроонкологічних хворих.

РОЛЬ МОНО- ТА БАГАТОВАЛЕНТНИХ КАТІОНІВ У РЕГУЛЯЦІЇ КЛІТИННОГО ЦИКЛУ ПУХЛИННИХ КЛІТИН В СИСТЕМІ *IN VIVO* З УРАХУВАННЯМ ЇХ ЧУТЛИВОСТІ ДО ДІЇ ЦИТОСТАТИКУ

Ю.В. Лозовська, Ю.В. Швец, А.П. Бурлака, І.М. Тодор, Н.Ю. Лук'янова, Д.М. Сторчай, Л.А. Налескіна, В.Ф. Чехун
 Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ
 Lozovskaya.2012@mail.ru

Вступ. Сучасними дослідженнями доведено важливу роль катіонів у регуляції росту клітинних популяцій, що позначається на ініціації синтезу ДНК, РНК, білка, векторних РНК. Відомо, що моновалентні катіони впливають на процесинг і дозрівання РНК, а багатовалентні катіони беруть участь у регуляції послідовності включення генів, які регулюють мітогичний цикл клітини. Однак невирішеним залишається питання щодо залучення у метаболізм злоякісної клітини тих катіонів металів, що сприяють її розвитку та прогресії з урахуванням чутливості до цитостатиків.

Мета: дослідити взаємозв'язок між змінами фаз клітинного циклу та вмістом іонів міді, цинку, магнію, комплексів «вільного заліза», натрію та калію у пухлинній тканині тварин із чутливим і резистентним фенотипом до доксорубіцину.

Об'єкт і методи. Дослідження проведено в системі *in vivo* на двох групах тварин із карциносаркомою Уокер-256: пухлинами вихідного штаму та з індукованою резистентністю до доксорубіцину. Тваринам обох штамів було проведено лікувальний курс доксорубіцином у сумарній дозі цитостатику 7,5 мг/кг маси тварини. Дослідження клітинного циклу та генерації активних форм кисню (АФК) у пухлинній тканині проводили на проточному цитофлуориметрі Beckman Coulter EPICS[®] XL Flow. Вміст міді, цинку, магнію, калію та натрію визначали із застосуванням відповідних реагентів до біохімічного аналізатора Chem Well 2990. Дослідження комплексів «вільного заліза» проводили з використанням методу електронно-парамагнітного резонансу.

Результати. Встановлено, що під дією цитостатику у клітинах карциносаркоми тварин із вихідним і резистентним штамами відбуваються протилежні зміни їх редокс-статусу — кількості комплексів «вільного заліза», генерації АФК. У пухлинній тканині особин із вихідним штамом виявили зростання комплексів «вільного заліза» у 1,2 раза, АФК — у 15 разів. У тварин із резистентним штамом спостерігали зниження цих показників відповідно у 1,6 та 1,4 раза. Показано, що у чутливій пухлинній тканині під дією препарату відбувається зниження вмісту міді, цинку, натрію у 1,2–1,4 раза, а у резистентній — їх підвищення у 1,5–2,0 раза. Доведено, що зростання рівня цих катіонів у пухлинних клітинах і зміна їх редокс-статусу є необхідною умовою для їхнього переходу від G1/S- у G2/M-фазу клітинного циклу незалежно від чутливості до цитостатику. У даній системі *in vivo* показано, що у механізмах проліферації пухлинних клітин із резистентним фенотипом після дії доксорубіцину важливу роль відіграє тенденція скоординованого зниження концентрацій іонів калію та магнію, що позначається на зростанні вмісту іонів Na⁺ у 1,2 раза, яке є необхідною умовою для синтезу широкого спектра протеїнів.

Висновки. Виявлені зміни співвідношення багато- та моновалентних катіонів у пухлинних клітинах з урахуванням їхньої чутливості до цитостатику та під його впливом свідчать про їхню здатність впливати на редокс-статус клітин і функціональні особливості білків — регуляторів клітинного циклу. Це дає підстави використовувати зазначені показники для розробки програм корекції та регуляції проліферативної активності трансформованих клітин з метою підвищення їхньої чутливості до дії протипухлинних препаратів.

ЕФЕКТИВНІСТЬ МЕТФОРМІНУ В НЕОАД'ЮВАНТНІЙ ТЕРАПІЇ РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ У ХВОРИХ З МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ

Р.В. Любота

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, Київ
 lyubota@ukr.net

Вступ. Рак молочної залози (РМЗ) є одним із найпоширеніших онкологічних захворювань в Україні. За даними Національного канцер-реєстру України, захворюваність на РМЗ у 2012 р. становила 67,1 випадку на 100 тис. жіночого населення. У 2005 р. Міжнародна федерація діабету (IDF) назвала метаболічний синдром (МС) однією з головних проблем сучасної медицини, оскільки він підвищує загальну смертність населення, а поширеність його досягла масштабів пандемії. У низці досліджень доведено вплив МС на канцерогенез РМЗ. Підвищення ефективності протипухлинної терапії у хворих з цукровим діабетом 2-го типу, які приймають бігуаніди, порівняно з пацієнтами, які застосовують інші гіпоглікемічні засоби, стало передумовою для вивчення протипухлинних механізмів дії метформіну.

Мета: вивчення впливу метформіну на ефективність неоад'ювантної системної протипухлинної терапії (НСПТ) у хворих на РМЗ із МС.

Об'єкт і методи. У дослідження включено 54 хворі на РМЗ у II–III стадії (віком від 46 до 77 років, середній вік — 59,0 ± 1,5 року), які проходили лікування в клініці кафедри онкології Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця на базі Київського міського клінічного онкологічного центру з 2010 по 2014 р. Усім хворим паралельно з дослідженнями, регламентованими стандартами діагностики РМЗ, проводили обстеження, спрямовані на виявлення МС згідно з критеріями IDF (2005 р.). З метою корекції МС частині пацієнтів призначали метформін по 500 мг 3 рази на добу, виняток становили хворі, які на момент встановлення діагнозу РМЗ отримували метформін з приводу цукрового діабету 2-го типу. Ефективність НСПТ оцінювали згідно з критеріями RECIST, за Miller та Raupе (2003) і за динамікою мітогичного індексу пухлини (Ki-67).

Результати. Усіх хворих (n = 54) на РМЗ, залежно від призначення метформіну при проведенні НСПТ, розділили на 2 групи: контрольну і дослідну. У контрольну групу включили 36 пацієнок із РМЗ та МС, які не приймали метформін під час НСПТ, а в дослідну — 18 хворих на РМЗ із МС, які отримували метформін одночасно з НСПТ. У пацієнок із дослідної групи достовірно частіше відзначали повну регресію (ПР) пухлини порівняно з хворими контрольної групи (28% проти 6% відповідно), а клінічно значущого ефекту терапії (часткова регресія (ЧР) + ПР) досягнуто у 67% пацієнок, що приймали метформін, проти 25% — у контрольній групі. У 53% хворих, які не застосовували метформін, спостерігалася стабілізація пухлинного процесу. Статистично значущі відмінності у вираженні морфологічного патоморфозу (за Miller та Raupе, 2003) виявлено при V ступені патоморфозу: 6% хворих у контрольній групі проти 31% — у дослідній. Зниження Ki-67 більш ніж на 50% внаслідок проведеного лікування достовірно частіше виявлено у дослідній групі (31%) порівняно з контрольною (6%).

Висновки. За отриманими даними, призначення метформіну хворим на РМЗ із МС під час проведення НСПТ призводить до підвищення ефективності останньої, а саме: збільшення кількості випадків клінічно підтвердженої ПР пухлини на 22% і ЧР — на 20%; збільшення кількості клінічно значущих відповідей (ЧР + ПР) на НСПТ на 42% у хворих, які приймали метформін; зниження експресії маркера Ki-67 на ≥ 50% від вихідного рівня в 38,5% хворих з дослідної та на 24% — у пацієнок контрольної групи; підвищення частоти повної морфологічної регресії (V ступінь) на 25%.

ЖЕЛАТИНАЗИ ТРОМБОЦИТІВ ЯК МАРКЕРИ ПУХЛИННОГО РОСТУ ТА МЕТАСТАЗУВАННЯ

Л.А. Мамонтова, І.І. Ганусевич, С.П. Осинський

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ
 lesya.mamontova@bk.ru

Вступ. Тромбоцити беруть безпосередню участь у метастатичному каскаді, захищаючи пухлинні клітини від імунної відповіді та допомагаючи їм потрапити до кровотоку і вижити в агресив-

ному середовищі. Матриксні металопротеїнази (ММП), продуковані тромбоцитами, зокрема желатинази, відіграють важливу роль у протеолітичному ремоделюванні клітинних рецепторів, задіяних у формуванні клітинних агрегатів циркулюючими пухлинними клітинами та тромбоцитами.

Мета: виявити зв'язок між кількістю тромбоцитів, рівнями активності продукованих ними желатиназ та показниками пухлинної прогресії у мишей з карциномою легені Льюїса і стадіями захворювання у хворих на рак шлунка (РШ).

Об'єкт і методи. Досліджено 112 хворих на РШ (75 чоловіків, 37 жінок), яких розподілили за стадіями захворювання таким чином: 19 — I, 32 — II, 34 — III, 27 — IV стадії. Використано метод зимографії в поліакриламідному гелі на основі SDS-електрофорезу, стандартні методи експериментальної онкології (перещеплення пухлин, оцінка розмірів пухлин і показників метастазування) та лабораторні методи (виділення та обчислення тромбоцитів). У статистичній обробці результатів використані *t*-критерій Стьюдента, кореляційний аналіз.

Результати. У мишей із карциномою Льюїса кількість тромбоцитів коливалася на 7-му добу після перещеплення у межах $2,2\text{--}3,35 \cdot 10^5/\text{мм}^3$, на 14-ту добу — у межах $2,3\text{--}4,06 \cdot 10^5/\text{мм}^3$, на 21-шу добу — у межах $2,05\text{--}4,5 \cdot 10^5/\text{мм}^3$. При цьому збільшення кількості тромбоцитів в експерименті супроводжувалося лише незначними її коливаннями в контрольній групі інтактних тварин — у межах $1,67\text{--}1,81 \cdot 10^5/\text{мм}^3$. Визначено кореляції між кількістю тромбоцитів у крові та об'ємом пухлини ($r = 0,78$; $p < 0,05$) і кількістю метастазів (але не з об'ємом) ($r = 0,4$; $p < 0,05$) у легенях мишей із карциномою Льюїса на 21-шу добу після перещеплення. У мишей із карциномою легені Льюїса активність як ММП-2, так і ММП-9 тромбоцитів крові помітно зростала впродовж усього періоду експерименту. Так, на 7-му добу після щеплення активність ММП-2 тромбоцитів становила $0,14 \pm 0,11$ ум. од., на 14-ту добу — $0,28 \pm 0,22$ ум. од., а на 21-шу — $0,39 \pm 0,22$ ум. од. Таку саму залежність відзначено і стосовно ММП-9 тромбоцитів: $0,43 \pm 0,19$; $0,58 \pm 0,17$; $0,76 \pm 0,32$ ум. од. відповідно. Визначено кореляції між активністю ММП-9 тромбоцитів у крові та об'ємом пухлини ($r = 0,33$; $p < 0,05$) й активністю ММП-2 тромбоцитів у крові та об'ємом метастазів у легенях мишей із карциномою легені Льюїса ($r = 0,29$; $p < 0,05$). Сумарна активність желатиназ тромбоцитів у хворих на РШ III–IV стадії в 1,2 раза перевищує цей показник у хворих із I–II стадією, але різниця не достовірна ($p > 0,05$). При цьому кількість тромбоцитів поступово зростає від I до IV стадії захворювання, загалом більше ніж у 2 рази ($p < 0,05$).

Висновки. Кількість тромбоцитів та активність їх желатиназ зростають впродовж прогресування пухлини та пов'язані з її ростом і метастазуванням. Отримані результати підтверджують вагомий внесок ММП тромбоцитів у результативність інвазії пухлини та екстравазації пухлинних клітин завдяки контролю неангіогенезу, адгезії та агрегації. Тромбоцити та желатинази тромбоцитів можуть бути використані як маркери пухлинного росту, регресії, рецидиву або терапевтичної відповіді.

ВНЕСОК НОСІЙСТВА НУКЛЕОТИДНОГО ВАРИАНТА G1691A ГЕНА ПРОАКЦЕЛЕРИНУ ТА G20210A АЛЕЛЯ ГЕНА ПРОТРОМБІНУ В РОЗВИТОК ТРОМБОЗІВ ПРИ ПЕРВИННОМУ МІЕЛОФІБРОЗІ

О.Ю. Міщенко¹, О.М. Костюкевич², В.М. Шкарупа¹, Л.В. Неумержицька¹, С.В. Клименко¹

¹ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України»

²ДНУ «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» Державного управління справами, Київ
otische@gmail.com

Вступ. Первинний мієлофіброз (ПМФ) — Ph-негативне мієлопроліферативне новоутворення (МПН), яке характеризується високим рівнем виникнення тромбозів (Bagbi T., 2014). Носійство генетичних маркерів спадкової тромбофілії є доведеним предиктором розвитку тромбозів у загальній популяції (Baglin T., 2010). Результати досліджень, присвячених визначенню внеску спадкової тромбофілії в зміну ризику виникнення тромбозів у хворих на Ph-негативні МПН, суперечливі (Moreno M., 2008). Найбільш перспективним маркером спадкової тромбофілії для прогнозування розвитку тромбозів при Ph-негативних МПН є наявність нуклеотидного

варіанта G20210A гена протромбіну та G1691A гена проакцелерину (Ruggeri M., 2002; Gisslinger H., 2005).

Мета: визначити частоту носійства G1691A аляля гена проакцелерину, G20210A аляля гена протромбіну у хворих на спонтанний та радіаційно-асоційований ПМФ із тромбозами і без них.

Об'єкт і методи. Скринінг носійства нуклеотидного варіанта G1691A гена проакцелерину та G20210A гена протромбіну за допомогою аналізу довжин рестрикційних фрагментів продуктів алей-специфічної полімеразної ланцюгової реакції проведено у хворих на спонтанний ($n = 78$) і радіаційно-асоційований ПМФ із тромбозами і без них. Виділення ДНК із мононуклеарних клітин крові здійснювали стандартним методом із використанням комерційного набору QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Німеччина). Праймери розроблено на підставі раніше опублікованих нуклеотидних послідовностей (Gandridge S., 1995; Butt C., 2003; Gupta N., 2003).

Результати. При радіаційно-асоційованому ПМФ тромбози відзначено у 18,2% ($n = 4$) випадків, а при спонтанному — у 14,1% ($n = 11$) епізодів. 6 із 78 (7,7%) та 2 із 22 (9,1%) хворих на спонтанний та радіаційно-асоційований ПМФ відповідно були носіями одного з двох маркерів спадкової тромбофілії. При спонтанному ПМФ тромбози виникали у 3 із 6 носіїв G1691A аляля гена проакцелерину чи G20210A аляля гена протромбіну, а у при радіаційно-асоційованому процесі — в 1 із 2 носіїв. Наявність нуклеотидного варіанта G1691A гена проакцелерину або G20210A гена протромбіну підвищувала частоту тромботичних подій (3 із 6 проти 8 із 72; $p = 0,03$) та в 6,1 раза (BP = 6,1; 95% ДІ=1,4–26,4) — ризик їх розвитку у хворих на спонтанний ПМФ, проте не впливала на частоту тромботичних подій у пацієнтів із радіаційно-асоційованим ПМФ (1 із 2 проти 2 із 20; $p = 0,33$).

У пацієнтів зі спонтанним та радіаційно-асоційованим ПМФ G1691A аляля гена проакцелерину представлений 4 (5,1%) із 78 та 2 (9,1%) із 22 випадків відповідно, а G20210A аляля гена протромбіну — 2 (2,6%) із 78 та 0 (0%) із 22 епізодів відповідно. При спонтанному ПМФ тромбози в анамнезі були у 2 із 4 носіїв G1691A аляля гена проакцелерину та в 1 із 2 носіїв G20210A аляля гена протромбіну. При радіаційно-асоційованому ПМФ 1 із 2 носіїв G1691A аляля гена фактора V коагуляції мав тромбоз в анамнезі. При спонтанному та радіаційно-асоційованому ПМФ не відзначено підвищення частоти тромбозів серед носіїв G1691A аляля гена проакцелерину (2 із 4 проти 9 із 74; $p = 0,09$) та 1 із 2 проти 3 із 17; $p = 0,33$ відповідно). У хворих на спонтанний ПМФ різниці в частоті тромбозів між носіями G20210A аляля гена протромбіну та особами з алелем дикого типу не виявлено (1 із 2 проти 10 із 76; $p = 0,26$).

Висновки. Наявність G1691A аляля гена проакцелерину або G20210A аляля гена протромбіну підвищує частоту (3 із 6 проти 8 із 72; $p = 0,03$) та ризик виникнення (BP = 6,1; 95% ДІ 1,4–26,4) тромбозів у хворих на спонтанний ПМФ.

АКТИВНІСТЬ КАТЕПСИНІВ L ТА D ТКАНИНИ ІНФІЛЬТРАТИВНОГО ПРОТОКОВОГО РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Н.В. Мотрук, І.І. Вовчук

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса
nvl@ukr.net

Вступ. Рак молочної залози (РМЗ) є одним з найпоширеніших злоякісних захворювань у жінок. Статистичні дані свідчать про щорічне збільшення кількості виявлених випадків РМЗ на 3–5% (Ряженів В.В., Горохова С.Г., 2011). Відомо, що в реакціях протеолізу при пухлиноутворенні, інвазії та метастазуванні активно задіяні лізосомальні ферменти, активність яких суттєво змінюється як у сироватці крові, так і в тканині пухлини (Levicar N., Strojnik T., Kos J. et al., 2002; Nomura T., Katunuma N., 2005). Однак інформація щодо наявності специфічних для пухлинних клітин протеїназ у літературі досить суперечлива.

Мета: дослідження активності катепсинів L та D у тканині інфільтративного протокового РМЗ.

Об'єкт і методи. Об'єктом дослідження слугували резектовані зразки тканини інфільтративного протокового РМЗ жінок, які не отримували доопераційного лікування, та резектовані зразки прилеглої до новоутворення нетрансформованої тканини, в яких за результатами гістологічного дослідження не виявлено атипових клітин. У супернатанті визначали активність катепсин D-подібних протеїназ (за методом Ансона, 1932); катепсин L-подібних протеї-

наз (за методом Чорної, 1989) і вміст білка (за методом Лоурі, 1951). Статистичну обробку результатів проводили за Манн — Уїтні.

Результати. Дослідження активності катепсин L-подібних протеїназ тканини інфільтративного протокового РМЗ не показало істотного підвищення активності ферменту щодо показників тканини молочної залози без новоутворень. Встановлено, що посилення злоякісності інфільтруючої форми протокового РМЗ супроводжується зниженням активності катепсин L-подібних протеїназ. Порівняно з нетрансформованою тканиною молочної залози на різних стадіях розвитку інфільтративного протокового РМЗ встановлено незначні коливання активності катепсин L-подібних ферментів. За результатами наших досліджень, катепсин L-подібні протеїнази не можуть бути використані як індикатор ступеня злоякісності інфільтративного протокової форми РМЗ, що суперечить деяким даним літератури (Lah T.T., Cercek M., Blejes A. et al., 2000) і може бути пояснено різними методичними підходами.

Дослідження активності катепсин D-подібних протеїназ інфільтративного протокового РМЗ показало підвищення активності ферменту щодо показників молочної залози без новоутворень у середньому в 4 рази. Посилення злоякісності супроводжується підвищенням активності цих протеїназ у 6 разів. При розвитку стадії проліферації та метастазування відзначали поступове підвищення активності катепсин D-подібних протеїназ (4 і 6 разів відповідно), стадії некрозу пухлини — її незначне зниження. Отримані результати частково збігаються з даними інших дослідників (Cavaillès V., Augereau P., Rochefort H., 1993; Garcia M., Platet N., Liaudet E. et al., 1996).

Висновки. Отримані нами результати підтверджують припущення про те, що катепсин D може бути індикаторним ферментом для карциноми молочної залози, а дослідження зміни активності цього ферменту у післяопераційний період або під час медикаментозного лікування може бути використано як прогностичний критерій перебігу хвороби.

РОЛЬ СУДИНОУТВОРЕННЯ В ПРОГРЕСІЇ АДЕНОКАРЦИНОМ ЕНДОМЕТРІЯ ТА ЯЄЧНИКА

І.П. Несіна, Н.П. Юрченко, Л.Г. Бучинська

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ
inesina@mail.ru*

Вступ. Відомо, що суттєву роль у прогресії пухлини відіграє ангиогенез, оскільки саме цей процес створює умови для міграції пухлинних клітин і метастазування злоякісних новоутворень. Судиноутворення контролюється низкою білків, які є продуктами деяких протоонкогенів і генів-супресорів. Серед останніх значну роль відіграє ген *TP53*, який інгібує експресію фактора росту ендотеліальних судин (VEGF) і одночасно активує інгібітори ангиогенезу — тромбоспондини. Крім цього, в регуляції активності білка VEGF мають значення рецептори естрогенів, зокрема ER- α , для якого інгібується геном *BRCA1*.

Мета: оцінити щільність мікросудин (ЩМС) в аденокарциномах ендометрія яєчника залежно від експресії білків p53 та ER- α і визначити їхній зв'язок з клініко-морфологічними показниками хворих.

Об'єкт і методи. Операційний матеріал 25 хворих на ендометріоїдний рак ендометрія (РЕ) (середній вік 52,2 \pm 9,9 року) та 81 пацієнтки із серозним раком яєчника (РЯ) (середній вік 46,6 \pm 2,4 року). Методи: морфологічний, імуногістохімічний (ІГХ), статистичний. ЩМС визначали за експресію трансмембранного білка міжклітинної адгезії CD34. ІГХ дослідження проводили з використанням МкАТ до p53 (клон DO-7), ER- α (клон 1D5), CD34 (клон QVEnd10) («Dako Cytomation», Данія).

Результати. Виявлено значну гетерогенність васкуляризації новоутворень ендометрія та яєчника як у пухлинах різних хворих, так і у межах однієї пухлини та певні гістотопографічні особливості (локальне або дифузне розташування). Індивідуальні показники ЩМС в ендометрії коливалися у межах 18,4–89,2 судини/мм² — у середньому 52,2 \pm 5,8 судини/мм², а в яєчнику — 10,0–128 судини/мм², у середньому — 63,6 \pm 2,9 судини/мм². Встановлено зв'язок між ЩМС і ступенем диференціювання як в аденокарциномах ендометрія, так і в РЯ. ЩМС була найвищою у низькодиференційованих пухлинах (G3) ендометрія (67,8 \pm 4,7 судини/мм²) та яєчника (69,1 \pm 4,4 судини/мм²). У високодиференційованих новоутвореннях (G1) цей показник становив: 33,3 \pm 2,7 судини/мм² (p = 0,04) — в ендометрії і 59,8 \pm 5,5 судини/мм² — в яєчнику. Підвищення ЩМС асоціювалося з одночасним (p < 0,05) збільшенням кількості клітин з експресією білка p53 (що свідчить про зниження його супресорної активності) і зменшенням кількості клітин з ER- α . Так, у G1-пухлинах ендометрія кількість клітин з експресією p53 становила 32,2 \pm 1,9% і ER- α — 43,2 \pm 2,3%, а у G3-пухлинах — 43,1 \pm 2,3 і 22,0 \pm 2,4% відповідно. При цьому у пухлинній тканині ендометрія між ЩМС та експресією ER- α виявлено обернений корелятивний зв'язок (R = -0,50; p < 0,05). У G1-пухлинах яєчника кількість клітин із p53 становила 24,3 \pm 1,6% і ER- α — 51,6 \pm 1,3%, а у G3-пухлинах показник p53 підвищувався (32,5 \pm 1,3%), а ER- α — знижувався (21,6 \pm 1,7%). Поряд із цим у хворих на РЕ з високою васкуляризацією (ЩМС > 50,2 судини/мм²) відзначали також глибоку інвазію пухлини у міометрій (> 1/2). У пацієнток із РЯ з метастазами було визначено вищу ЩМС (62,8 \pm 6,4 судини/мм²), ніж у пацієнток без метастазів (55,5 \pm 5,7 судини/мм²). Натомість кількість клітин з експресією ER- α у пухлинах хворих на РЯ з метастазами була достовірно меншою (p < 0,05), а з експресією p53 — більшою порівняно з відповідними значеннями у пухлинах пацієнток без метастазів. При аналізі прогностичного значення ЩМС у пухлинах хворих на РЯ з'ясовано, що у групі пацієнтів, тривалість життя яких становила < 5 років, ЩМС у пухлинах була вищою (62,6 \pm 5,1 судини/мм²; p < 0,05) порівняно з відповідним показником у хворих, що прожили після операції протягом 5 років і більше (47,6 \pm 3,7 судини/мм²).

Висновки. Прогресія ендометріоїдного РЕ і серозного РЯ відбувається в умовах активного судиноутворення, яке найбільш виражене у низькодиференційованих пухлинах і відбувається при зниженій активності p53 та ER- α . Отримані дані свідчать, що визначення ЩМС, експресії p53 та ER- α для оцінки перебігу РЕ та РЯ є перспективним як прогностичний маркер пухлинного процесу.

ОЦІНКА МІТОТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ЛІМФОЦИТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ОНКОЛОГІЧНИХ ХВОРИХ

О.П. Пилипчук

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ
lena.pylypchuk@ukr.net*

Вступ. Канцерогенез — багатоступінчастий процес накопичення мутацій та різних генетичних змін, які зумовлюють порушення ключових функцій клітин, пошкодження генетичного матеріалу. Відомо, що лімфоцити периферичної крові людини (ЛПК) здійснюють імунний нагляд за антигенною сталістю внутрішнього середовища організму, а здатність до бласттрансформації відображає їх функціональну активність. У стимульованій мітогенною культурі лімфоцитів значення мітотичного індексу (МІ) відображає баланс між проліферацією та елімінацією клітин.

Мета: оцінити проліферативний потенціал ЛПК у пацієнтів онкогінекологічного профілю з первинними пухлинами залежно від ступеня прогресії захворювання.

Об'єкт і методи. У роботі використано тест-систему ЛПК хворих онкогінекологічного профілю з первинними пухлинами та умовно здорових донорів з визначенням МІ Т-лімфоцитів. Зразки крові пацієнтів культивували модифікованим напівамкротомом. З метою оцінки проліферативного потенціалу клітин визначали МІ у ФГА-стимульованих Т-лімфоцитах за формулою:

$$MI = (M_1 / M_2) \cdot 1000\%,$$

де M_1 — кількість клітин у стадії метафази, M_2 — загальна кількість баластних клітин. На одне спостереження підраховували 3000 клітин.

Результати. У наших дослідженнях середній показник проліферативної активності лімфоцитів умовно здорових донорів становив 63,7 \pm 3,2%, що збігається з даними літератури. Дослідження з визначення зміни проліферативного потенціалу ЛПК онкогінекологічних хворих залежно від стадії прогресування пухлинного процесу показало такі результати. Проліферативний потенціал ЛПК пацієнтів із раком шийки матки II стадії пригнічується на 35% порівняно з контролем — умовно здоровими донорами (63,70 і 41,23%). З підвищенням рівня прогресії пухлин до III стадії захворювання МІ пригнічується більш ніж на 50% (63,70 і 26,92%). Пригнічена мітотична активність лімфоцитів хворих може бути наслідком імунодепресії, притаман-

ної процесам канцерогенезу. Таким чином, показано, що дослідження проліферативної активності ЛПК, зокрема їхнього МІ, можна використовувати як додатковий показник при прогнозуванні перебігу захворювання.

Висновок. Встановлено, що з підвищенням рівня поширеності (стадії) раку шийки матки відбувається пригнічення проліферативного потенціалу ЛПК від 30 до 50% залежно від ступеня прогресії захворювання порівняно з контрольним рівнем у культурі клітин умовно здорових донорів.

РАК ЯК МІКРОЕВОЛЮЦІЙНИЙ ПРОЦЕС В ІСТОРИЧНОМУ АСПЕКТІ

Т.В. Рибальченко, М.С. Дзержинський, В.К. Рибальченко
Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, Київ
rybalchenko@univ.kiev.ua

Висока захворюваність на рак зумовлена накопиченням соматичних мутацій як результату помилок у реплікації, репарації та рекомбінації ДНК, кількість яких зростає в присутності мутагенів різної природи. Перші вказівки про хімічну природу пухлинного росту започаткував П. Потт у 1775 р., який описав рак трубчастів. Початком експериментальної онкології вважають дослідження М. Новинського (у 1876 р. трансплантував пухлини на собаках). У 1903 р. була висунута гіпотеза про вірусну природу пухлин (А. Боррель, 1903), а перший такий вірус був виділений у 1911 р. П. Раусом — вірус саркоми Рауса. У 1915 р. К. Ямагаві та К. Ішикава отримали рак шкіри у кролів шляхом втирання кам'яновугільної смоли. Канцерогенні ефекти іонізуючого випромінювання були отримані у 1932 р. (А. Лакасань). У 1933 р. засновано Міжнародний протираковий союз. У 1937 р. Л. Шаббад ввів поняття про *ендогенні бластомагенні речовини*, отримавши пухлини у тварин шляхом введення їм екстрактів тканин померлих від раку людей. У 1948 р. Л. Зільбер відкрив специфічні пухлинні антигени і сформулював вірусно-генетичну теорію пухлин. Розвиток цього напрямку дозволив виявити у пухлинах печінки особливий ембріональний білок — α -фетопропротеїн (1962) — і розробити діагностичну пробу на рак печінки (Г. Абелев, 1968). Новий напрям онкології — *епідеміологія пухлин* — розроблено у середині минулого сторіччя.

Пухлини, що виникають різними способами, мають мутації протоонкогенів, одні з яких кодуєть фактори росту, інші — їх рецептори, протеїнази, G-білки родини RAS чи ядерні регуляторні білки. Молекулярні механізми канцерогенезу набувають реальних ознак. Так, наприклад, мутації гена *SIS*, який кодує тромбоцитарний фактор росту, призводять до його експресії: клітина набуває здатності постійно стимулювати себе саму. Пухлинним клітинам притаманні спадкові властивості: розмноження без обмежень, заповнення в організмі місць, призначених у нормі для інших клітин, *інвазивність* і здатність формувати *метастази*. Тому рак як мікроеволюційний процес є результатом ймовірної внутрішньоклітинної трансформації, на який впливають комбінації зовнішніх факторів. У вивченні злоякісних пухлин сформувалося чотири основні напрями: *генетичний, вірусний, хімічний і радіаційний*. Ролі організму як екосистеми в утворенні пухлин, у якій індивідами є клітини, багато уваги приділяли і наші співвітчизники — учні О. Сперанського. Встановленню участі *мезенхіми* в генерації пухлин присвячені роботи О. Богомольця, Р. Кавецького та І. Неймана. Грунтовні дані про участь *сполучної тканини* у формуванні пухлин отримано О. Васильєвим, морфологічне вивчення пухлин знайшло своє відображення в роботах М. Глазунова, М. Краєвського та інших патологоанатомів, а цитологічні й гістологічні дослідження (В. Португалов, М. Райхлін та ін.) встановили походження пухлинних клітин. Широкого розмаху набули дослідження хірургічного, радіологічного і терапевтичного напрямів лікування хворих із пухлинами (М. Блохін, Л. Ларіонов, Г. Зедгенідзе та ін.).

Висновки. З огляду на короткий історичний екскурс розвитку теоретичних основ канцерогенезу й онкології та з урахуванням кількості онкологічних центрів у світі й фінансових затрат на лікування пацієнтів із раком і його (далекими від бажаних) наслідками назривають неординарні запитання. Чи потрібно боротися з раком як фактором еволюції? Можливо, настав час спрямувати зусилля науковців і лікарів на підтримання «нормального» стану хворих з онкологічною патологією, зупинку раку на нелетальних стадіях його розвитку і забезпечення працездатності пацієнтів?

ВИВЧЕННЯ АНТИМЕТАСТАТИЧНОЇ ДІЇ КСЕНОГЕННОЇ ВАКЦИНИ, ВИГОТОВЛЕНОЇ НА ОСНОВІ ЕМБРИОНАЛЬНИХ ПРОТЕЇНІВ КУРКИ, НА МОДЕЛІ КАРЦИНОМИ ЛЕГЕНІ ЛЬЮІС

Т.В. Силчич, Н.І. Федосова, І.М. Воєйкова, О.М. Караман, Л.М. Євстратівська, Г.П. Потєбня

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ
itmunomod@ukr.net

Вступ. Наприкінці 90-х років ХХ ст. одержана можливість підвищення імунологічної відповіді на пухлинні антигени шляхом використання їх ксеногенних аналогів, що стало підґрунтям для створення ксеногенних протипухлинних вакцин (КПВ). Враховуючи численні дані літератури щодо наявності у складі ембріона курки білків, гомологічних людським (з тому числі й пухлиноасоційованим), а також відомості про здатність поліантигенних вакцин індукувати імунну відповідь на велику кількість пухлинних антигенів, в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології (ІЕПОР) ім. Р.Є. Кавецького НАН України сконструйовано КПВ на основі ембріональних протеїнів курки (ЕПК). Безпека такої вакцини була продемонстрована в попередніх дослідженнях на інтактних мишах.

Мета: оцінити антиметастатичну активність КПВ на основі ЕПК в оперованих з приводу метастазуючої карциноми легеневої Льюїс (КЛЛ) мишей.

Об'єкт і методи. Досліди проводили на мишах лінії $C_{57}Bl/6$ віком 2,5 міс розведення віварію ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького НАН України. Утримання та роботу з тваринами здійснювали згідно з Міжнародними правилами проведення робіт з експериментальними тваринами. Клітини КЛЛ вводили у стопу правої задньої кінцівки в дозі $2,5 \cdot 10^5$ клітин у 0,05 мл. На 17-ту добу після перещеплення проводили хірургічне видалення стоги з пухлиною. Через 1 добу після операції починали введення КПВ, виготовленої на основі антигенів 7-денних ембріонів курки. Вакцину (С) = 0,3 мг/мл вводили підшкірно триразово по 0,3 мл/мишу на 1-шу, 7-му та 14-ту добу після операції (18-та, 24-та і 31-ша доба пухлинного процесу). Контролем слугували невакциновані оперовані миші. На 18-ту та 34-ту добу після операції (відповідно 35-та й 50-та доба пухлинного процесу) визначали частоту метастазування, кількість та об'єм метастазів, а також розраховували індекс інгібіції метастазування (ІМ, %). Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми StatSoft STATISTICA 7.0 з використанням *t*-критерію Стьюдента.

Результати. Введення оперованим мишам КПВ мало виражений і довготривалий антиметастатичний ефект. Так, на 18-ту добу після операції у вакцинованих мишей достовірно нижчими за показники у невакцинованих тварин були частота метастазування ($27,3 \pm 13,4$ проти $72,7 \pm 13,4$; $p < 0,05$), а також об'єм і кількість метастазів (відповідно $1,2 \pm 0,9$ проти $69,3 \pm 25,8$; $p < 0,05$ та $1,0 \pm 0,6$ проти $12,0 \pm 3,5$; $p < 0,05$). ІМ становив 96,9%. На 34-ту добу після хірургічного втручання все ще зберігався захисний ефект КПВ: у вакцинованих тварин достовірно зниженим залишався показник частоти метастазування ($15,4 \pm 10,0$ проти $66,7 \pm 13,6$; $p < 0,05$); кількість та об'єм метастазів були меншими, ніж в оперованих невакцинованих мишей, однак через гетерогенізацію показників статистичної достовірності не досягли. ІМ становив 97,8%.

Висновки. На основі отриманих результатів щодо вираженого антиметастатичного ефекту КПВ, виготовленої на основі ЕПК, відкриваються нові можливості для профілактики метастазування первинної пухлини після її хірургічного видалення.

ЕКСПІРАТИ У ХВОРИХ НА РАК ЛЕГЕНІ ПІД ВПЛИВОМ ПРОМЕНЕВОЇ ТЕРАПІЇ

О.В. Синяченко¹, О.Ю. Столярова², Ю.В. Думанський¹, Ю.О. Потапов¹, Є.Д. Євудіна¹

¹Донецький національний медичний університет ім. Максима Горького, Красний Лиман

²Національний інститут раку МОЗ України, Київ

³Дніпропетровська державна медична академія, Дніпропетровськ
oncologdops@gmail.ru

Вступ. Рак легені (РЛ) супроводжується змінами біохімічного складу і фізико-хімічних властивостей конденсату вологи повітря, яке видихається (експіратів), що певною мірою відображає харак-

тер продукції легеневого сурфактанту. Гіпотетично вивчення показників експіратів може мати не лише певну діагностичну значущість при різних варіантах клініко-морфологічного перебігу захворювання, а й слугувати критерієм ефективності лікувальних заходів.

Мета: оцінити стан експіратів при РЛ і динаміку їх параметрів під впливом променевої терапії (ПТ).

Об'єкт і методи. У 28 хворих на дрібно- та недрібноклітинний РЛ вивчали швидкість і об'єм респіраторного вологовиділення, вміст в експіратах загального білка, фібронектину, β_2 -мікроглобуліну, α_2 -макроглобуліну, небілкових азотистих продуктів (аміаку, сечовини, сечової кислоти, нітритів), молекул середньої маси (МСМ) амінопептидної, пептидної, нуклеотидної фракції та фракції, що містить ароматичні хромофори, фосфоліпідів, холестерину, тригліцеридів, ліпопротеїдів різної щільності, поверхневого натягу, в'язкості, пружності, релаксації й модуля в'язкоеластичності.

Результати. При усіх варіантах РЛ зменшуються: об'єм респіраторного вологовиділення, екскреція з повітрям, яке видихається, кількість загального білка й фосфоліпідів на тлі підвищеної експірації фібронектину, аміаку й нітритів, амінопептидної та нуклеотидної фракції МСМ із розбалансуванням співвідношень окремих класів ліпопротеїдів (високої, низької та дуже низької щільності), що визначається розмірами пухлини, станом кондиціонуєної функції легень, бронхопрхідності й гемодинаміки в малому колі кровообігу. За даними варіаційного, дисперсійного, кореляційного та регресійного аналізу, РЛ вже на ранніх стадіях патологічного процесу перебігає зі зменшенням поверхневого натягу експіратів на тлі збільшення модуля в'язкоеластичності та часу релаксації, показники яких мають прогностичну значущість у контексті ефективності подальшої ПТ, яка ізолювано чи в комбінації з хіміотерапією була виконана у 13 хворих. У процесі ПТ відзначають пригнічення параметрів у експіратах фібронектину, нітритів, амінопептидної фракції МСМ, модуля в'язкоеластичності та поверхневої в'язкості при підвищенні вмісту α_2 -макроглобуліну, фосфоліпідів, ліпопротеїдів високої щільності. ПТ супроводжується ще більшим пригніченням міжфазної активності конденсату вологи повітря, що видихається, а ступінь відновлення значень α_2 -макроглобуліну прямо асоціюється з ефективністю лікування.

Висновки. У хворих на РЛ відзначають зміни біохімічного складу легеневого сурфактанту та фізико-хімічних (адсорбційно-реологічних) властивостей експіратів. Під впливом ПТ простежується тенденція до відновлення деяких показників вологи повітря, що видихається, а прогностичне значення ефективності лікування мають початкові значення в'язкоеластично-релаксаційних властивостей експіратів і динаміка в них концентрації α_2 -макроглобуліну.

ДОСЛІДЖЕННЯ МЕХАНІЗМІВ ДІЇ КСЕНОГЕННОЇ ПРОТИПУХЛИННОЇ ВАКЦИНИ НА МОДЕЛІ МЕЛАНОМИ В-16

Н.І. Федосова, І.М. Воськіва, О.М. Караман, Т.В. Симчич, Г.В. Діденко, Л.М. Євстрат'єва, Г.П. Потєбня

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ
immunomod@ukr.net*

Вступ. На сьогодні імунотерапія пухлин, у тому числі вакцино-терапія, зарекомендувала себе як ефективний засіб профілактики рецидивів і метастазів у прооперованих з приводу злоякісних новоутворень хворих. Однак до кінця не з'ясованими залишаються питання щодо визначення імунологічних ефектів різних типів вакцин, а також відбору показників для моніторингу ефективності вакцинотерапії.

Мета: вивчити вплив протипухлинної ксеногенної вакцини (ПКВ) на деякі показники протипухлинного імунітету та оцінити можливі механізми її антиметастатичної дії на моделі меланому В-16.

Об'єкт і методи. Дослідження проведено на мишах лінії С₅₇В1/6 віком 2,5 міс. Клітини меланому В-16 вводили в стопу правої задньої кінцівки в дозі $2,5 \cdot 10^5$ клітин у 0,05 мл. На 18-ту добу після пересадки проводили хірургічне видалення стопи з пухлиною. Через 3 доби після операції починали введення ксеногенної протипухлинної вакцини, розробленої в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології (ІЕПОР) ім. Р.Є. Кавецького НАН України на основі антигенів ембріональної нервової тканини шурів пізнього періоду гестації та білоквмісного метаболіту *B. Subtilis* з м.м. 70 кДа. Вакцину (С₁ = 0,3 мг/мл) вводили підшкірно триразово, з інтервалом 3 доби по 0,3 мл/мишу з подальшою двократною ревакцинацією. Контролем слугували інтактні та невакциновані оперовані тва-

рини. Визначали частоту, кількість та об'єм метастазів, а також розраховували індекс інгібіції метастазування (ІМ, %). Цитотоксичну активність (ЦТА) спленоцитів щодо клітин-мішеней К-562, а також спленоцитів, макрофагів (МФ) та сироваток крові (СК) до клітин-мішеней меланому В-16 визначали в МТТ-тесті. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми StatSoft STATISTICA 7.0 з використанням *t*-критерію Стьюдента та коефіцієнта кореляції (*r*).

Результати. Використання ПКВ в оперованих мишей із меланомою В-16 призводило до зменшення кількості (в 15,3 раза, $p < 0,05$) та об'єму (в 2,7 раза, $0,05 < p < 0,1$) легеневи метастазів. ІМ становив 97,4%. У віддалені терміни спостереження у вакцинованих мишей відзначали суттєве підвищення ЦТА природних кілерних клітин (ПКК) і МФ. Функціональна активність специфічних цитотоксичних лімфоцитів (ЦТЛ) залишалася на рівні інтактних тварин протягом усього терміну дослідження. Зафіксовано суттєве підвищення ЦТА СК ($p < 0,05$) та її потенціовальний вплив на активність МФ. З метою визначення параметрів, що зумовлюють антиметастатичний ефект ПКВ, розраховували індекси кореляції між об'ємом і кількістю метастазів і досліджуваними показниками протипухлинного імунітету у віддалені терміни пухлинного процесу. На 32-гу добу після операції негативний кореляційний зв'язок відмічали між ЦТА ПКК і кількістю (сильний); $r = -0,96$, $p < 0,05$) та об'ємом (значний; $r = -0,68$) метастазів; у подальшому кореляція між цими показниками була сильною негативною ($r = -0,88$ та $r = -0,95$, $p < 0,05$ відповідно). Кореляційний зв'язок між показниками метастазування та ЦТА МФ залишався сильним негативним протягом усього терміну спостереження. Кореляція ЦТА ЦТЛ із кількістю метастазів збільшувалася від помірної ($r = -0,33$) до сильної ($r = -0,84$, $p > 0,05$), а з об'ємом метастазів — від дуже слабкої ($r = -0,16$) до сильної ($r = -0,88$, $p < 0,05$). Відмічали коливання кореляційного зв'язку між показниками метастазування та ЦТА СК (від слабкого до значного), а також її потенціовальним впливом на ЦТА ЦТЛ (від слабкого до помірного) і ЦТА МФ (від значного до сильного).

Висновки. Враховуючи отримані результати, можливо припустити, що антиметастатичний ефект розробленої нами вакцини зумовлений підвищенням ЦТА ефektorів неспецифічного протипухлинного імунітету (ПКК і МФ) та збереження цього показника специфічних ЦТЛ у віддалені терміни після операції.

ЛІМФОЦИТАРНА ІНФІЛЬТРАЦІЯ МЕЛАНОМИ ШКІРИ ТА ЕФЕКТИВНІСТЬ ІНТЕРФЕРОНОТЕРАПІЇ

Ф.В. Фільчаков, О.М. Грабовий, Г.Д. Льон, С.М. Кукушкіна, С.І. Коровін, М.М. Кукушкіна, В.М. Весельська, Л.М. Таран
*Національний інститут раку МОЗ України, Київ
labklimmun@i.ua*

Вступ. Інтерферонотерапія (ІФН-терапія) залишається стандартом ад'ювантного лікування хворих на меланому шкіри (МШ) в I–III стадії. Проте не всі пацієнти позитивно відповідають на її проведення, що викликає дискусії стосовно доцільності емпіричного призначення ІФН- α всім хворим. Персоніфікація терапії з урахуванням предиктивних факторів, одним із яких є лімфоїдно-клітинна інфільтрація пухлини, може підвищити ефективність ад'ювантного лікування. Дослідження зразків тканини, отриманих під час хірургічного висічення первинної пухлини, обмежується визначенням виключно гістопатологічних особливостей пухлини, тому пошук прогностичних критеріїв ефективності ІФН-терапії у хворих на МШ є актуальним.

Мета: вивчити особливості локалізації та імунофенотипу лімфоцитів, які інфільтрують пухлину, у хворих на первинно-локалізовану МШ для визначення прогностичної цінності лабораторних показників при проведенні ад'ювантної ІФН-терапії.

Об'єкт і методи. У дослідження залучено 12 хворих на МШ у ІВ–ІС стадії, що отримували в ад'ювантному режимі ІФН- $\alpha 2b$ підшкірно по 3 млн МОЗ рази на тиждень протягом 12 міс. Проведено імуногістохімічне дослідження операційного матеріалу первинної пухлини з використанням поліклональних антитіл проти CD3 антигену та моноклональних антитіл проти антигенів CD8 (clone C8/144B), CD4 (clone 4B12), CD20cy (clone L26), CD56 (clone 123C3), CD45RO (clone UCHL1) («Dako», Данія), CD45RA (clone ALB11) («Beckman Coulter», США), HLA-DR (clone G46–6 (L243)), CD25 (clone M-A251), CD95 (clone DX2) («Becton Dickinson», США). Виникнення рецидиву протягом першого року після видалення первинної пухлини розціню-

вали як несприятливий перебіг захворювання, відсутність рецидиву — як сприятливий.

Результати. На клітинна лімфоїдного інфільтрату первинної пухлини відзначали експресію 5 антигенів: CD3, CD8, CD45RA, CD45RO та CD20. Т-лімфоцити (CD3⁺) були представлені у всіх пацієнтів; тільки в 3 із 12 випадків, крім CD3⁺-клітин, виявлено В-лімфоцити (CD20⁺). Усі Т-лімфоцити експресували виключно антиген (корецептор) CD8, що дозволило віднести їх до субпопуляції цитотоксичних Т-лімфоцитів (ЦТЛ). Більшість ЦТЛ локалізувалися в стромі пухлини і були представлені як наївними Т-клітинами (CD45RA⁺), так і клітинами імунологічної пам'яті (CD45RO⁺).

На тлі ІФН-терапії протягом першого року після видалення первинної пухлини прогресування захворювання зареєстроване у 4 із 12 пацієнтів. У хворих із сприятливим перебігом захворювання ($n = 8$), на відміну від пацієнтів із рецидивом, реєстрували більш виражену інфільтрацію стромі пухлини CD45RO⁺-клітинами, а паренхіми — CD8⁺-лімфоцитами.

Висновки. 1. Серед вивчених лейкоцитарних антигенів найбільш інформативними для характеристики лімфоїдно-клітинної інфільтрації первинної МШ є CD3, CD8, CD45RA та CD45RO. 2. Збільшення частки ЦТЛ (CD8⁺) та/або ефекторних Т-клітин пам'яті (CD45RO⁺) серед лімфоцитів, що інфільтрують пухлину, у хворих на первинно-локалізовану МШ асоціюється зі сприятливим перебігом захворювання на тлі ад'ювантної ІФН-терапії. 3. Отримані результати відкривають нові можливості застосування імунологічних параметрів у прогнозуванні відповіді на ІФН-терапію у цієї категорії хворих і потребують подальших досліджень.

РОЗПОВСЮДЖЕННЯ ТА ПРОГНОСТИЧНА ЗНАЧИМІСТЬ АВС-ТРАНСПОРТЕРІВ У ПУХЛИНАХ ХВОРИХ НА РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Д.А. Цвєтєва-Берест¹, О.О. Ковальов², Т.В. Грудинська¹

¹Запорізький обласний клінічний онкологічний диспансер
²ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України» Запоріжжя
0503221530@ukr.net

Вступ. Рак молочної залози (РМЗ) — найбільш часте онкологічне захворювання у жінок. Захворюваність на РМЗ і пов'язана з ним смертність невинно зростають в Україні загалом та Запорізькій області зокрема. Більшість пацієнок із РМЗ у Іа–ІV стадії потребують проведення поліхіміотерапії (ПХТ) згідно зі стандартами лікування. Дані щодо ефективності різних режимів ПХТ значно відрізняються: при місцево-розповсюдженню РМЗ ефективність неoad'ювантної ПХТ становить близько 80–90%, але повна патогістологічна відповідь сягає лише 20%; при метастатичному РМЗ ефективність паліативної ПХТ становить у 1-й лінії близько 25–55%; ефективність таксанів у 1-й лінії — 35–50%, антрациклінів — 31%, комбінації таксанів й антрациклінів — 50% (частота повних ремісій — близько 15%). Таким чином, різноманітність схем ПХТ не забезпечує 100% результату, у 50–55% хворих РМЗ прогресує. Саме тому актуальним є пошук шляхів індивідуалізації лікування.

Мета: поліпшити результати лікування пацієнок із РМЗ за рахунок індивідуалізації лікування шляхом визначення експресії АВС-транспортів (BCRP, pGr, MRP) у пухлині.

Об'єкт і методи. Проведено аналіз результатів лікування 100 пацієнок із РМЗ ІІ–ІV стадії, які визначали за системою TNM-6. Оцінку ефекту від лікування проводили згідно з критеріями RECIST 1.1. Дослідження АВС-транспортів (BCRP, pGr, MRP1) виконано на зразках біопсійного матеріалу (трепанбіоптатах) та операційному матеріалі РМЗ, експресію маркерів визначали імуногістохімічним методом. Як первинні були використані антитіла фірми DBS Anti-P-Glycoprotein (p170) (клон F4), Millipore Anti-MRP (клон MRPm6) і Anti-BCRP (клон BXP-21). У процесі забарвлення використовували систему візуалізації EnVision FLEX+ за стандартним протоколом. Візуальну оцінку отриманих результатів здійснювали за допомогою мікроскопа Imager.A1m (Zeiss) при збільшенні $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$. Уніфіковані шкали оцінок експресії маркерів хіміорезистентності відсутні. Шляхом аналізу даних літератури нами були розроблені власні шкали, за якими здійснювали якісну та кількісну оцінку рівня кожного з маркерів.

Результати. Виявлено залежність результатів ПХТ від рівня і характеру експресії протеїнів BCRP, pGr, MRP у пухлині.

За відсутності експресії чи експресії на рівні 1+ об'єктивну відповідь зареєстровано у 21 (80,8%) із 26 хворих. За наявності цитоплазматичної експресії на рівні 2+, 3+, але без мембранної експресії цих маркерів, об'єктивну відповідь відзначено у 42 (91,3%) із 46 пацієнок. У групі хворих, які мали мембранну експресію хоча б одного із протеїнів (BCRP, pGr, MRP), відповідь на лікування становила лише 28,5%, прогресію зафіксовано у 71,4% пацієнок (у 20 із 28).

Висновки. Доведено, що пухлини з мембранною експресією хоча б одного з протеїнів (BCRP, pGr, MRP — будь-якого) характеризуються агресивним перебігом і потребують агресивнішої схеми хіміотерапії. Встановлено, що цитоплазматична експресія всіх досліджених протеїнів свідчить про неагресивний перебіг захворювання та чутливості до хіміотерапії.

На підставі отриманих даних був отриманий патент на корисну модель від 10.10.2014 р. № 93596 «Спосіб вибору хіміотерапії при лікуванні хворих на рак молочної залози».

СТАН ДЕЯКИХ СКЛАДОВИХ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ТА МЕТАБОЛІЗМУ ЗАЛІЗА В ОРГАНІЗМІ ПУХЛИНОНОСІЯ В ПРОЦЕСІ РОЗВИТКУ ЗЛОЯКІСНОГО НОВОУТВОРЕННЯ ЗА УМОВ РІЗНОЇ ЙОГО ЧУТЛИВОСТІ ДО ЦИСПЛАТИНУ

В.Ф. Чехун, Ю.В. Лозовська, А.П. Бурлака, Н.Ю. Лук'янова, І.М. Тодор, Л.А. Налескіна

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ
Lozovskaya.2012@mail.ru

Вступ. Сучасними дослідженнями підтверджено, що розвиток злоякісного процесу призводить до накопичення в організмі «вільного заліза», яке у свою чергу спричиняє зміни антиоксидантної активності металовмісних протеїнів: церулоплазміну (ЦП), трансферину (ТФ) та металотіонеїну (MT-1). Однак маловивченим питанням залишається дослідження стану антиоксидантної системи організму з пухлиною (а саме: хелаторів іонів металів зі змінною валентністю) та рівня «вільного заліза» за умов різної чутливості злоякісного новоутворення до хіміопрепаратів.

Мета: дослідження особливостей метаболізму заліза *in vivo* за кількісними показниками металовмісних білків і станом антиоксидантної системи на моделі карциноми Герена в динаміці розвитку пухлини за умов їхньої різної чутливості до цисплатину.

Об'єкт і методи. Об'єктом дослідження були 80 щурів-самців із чутливою та резистентною до цисплатину карциномою Герена. Зміни рівня протеїнів у крові тварин визначали у різні періоди росту карциноми Герена через 1; 3; 5; 7; 14 та 23 доби після перещеплення пухлин. Вміст MT-1 у сироватці крові та пухлинному гомогенаті визначали методом ІФА (ELISA) за допомогою аналізатора Chem Well 2990. Визначення активності ЦП, вмісту ТФ, комплексів «вільного заліза» та супероксид- та NO-генеруючої активності НАДФН-оксидази, iNOS нейтрофілів у крові та пухлинній тканині тварин проводили з використанням методу електронно-парамагнітного резонансу (ЕПР).

Результати. Продемонстровано максимальне накопичення MT-1 у сироватці крові та пухлині, більш виражене у резистентному штамі, на межі латентної та експоненціальної фази росту, що є свідченням захисної ролі цього білка щодо генерації вільнорадикальних сполук. Встановлено, що у тварин з резистентним до цисплатину штамом карциноми Герена більш виражене зростання комплексів «вільного заліза» як на рівні пухлини, так і організму в цілому на фоні збільшення співвідношення ЦП/ТФ. Зазначені зміни метаболізму заліза з накопиченням його у пухлині та подальшим перепрограмуванням метаболізму мітохондрій і активності НАДФН-оксидази нетрансформованих клітин є необхідною складовою формування окисного фенотипу пухлини.

Висновки. На моделі карциноми Герена з чутливим і резистентним до цисплатину штамами показано дисбаланс металовмісних протеїнів обміну заліза — MT-1, ТФ і ЦП — у динаміці розвитку пухлинного процесу на рівні складної системи взаємодії пухлини та організму. Зазначені зміни були більш вираженими у тварин із резистентною пухлиною, що, відповідно, є сприятливою умовою для формування окисного фенотипу та прогресування пухлинного осередку.

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ МАРКЕРІВ РАКОВИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН У ХВОРИХ НА РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ РІЗНИХ МОЛЕКУЛЯРНИХ ПІДТИПІВ

С.В. Чехун¹, Н.Ю. Лук'янова¹, Н.О. Новак², Л.З. Поліщук¹

¹Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького НАН України

²Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, Київ
lu_na_u@rambler.ru

Вступ. Дані доступної літератури вказують на залежність клінічного поліморфізму і прогнозу раку молочної залози (РМЗ) від міжпухлинної гетерогенності пухлин, яка зумовлена генними та протеомними змінами у пухлинних клітинах. В останні роки з'явилися результати дискусійного характеру стосовно зв'язку гетерогенності та агресивності РМЗ за рахунок ракових стовбурових клітин (cancer stem cells — CSC), молекулярними маркерами яких є молекули міжклітинної адресії CD44 і CD24.

Мета: оцінити частоту розподілу пухлин за експресією CD44 і CD24 у РМЗ різних молекулярних підтипів.

Об'єкт і методи. Дослідження проведено на операційному матеріалі 115 хворих на РМЗ I—II стадії. Застосовано клінічні, морфологічні, імуногістохімічні, статистичні методи.

Результати. Середній вік хворих на РМЗ різних молекулярних підтипів не мав достовірних відмінностей і коливався від 53,8 ± 4,7 до 55,5 ± 2,5 року. Аналіз результатів імуногістохімічної реакції показав, що у 31 (27,0%) зі 115 хворих була помірна і сильна експресія CD44 і відсутня або незначно виражена експресія CD24, тобто пухлини мали фенотип CSC — CD44+, CD24—/low. Серед 31 пацієнти було по 9 осіб з лумінальним А (PE+, PP+, HER2/neu-) і лумінальним Б (PE+, PP+, HER2/neu+) підтипами (n = 18; 15,7%) та 13 (11,3%) хворих з базальним (тричі рецепторнегативним підтипом — PE-, PP-, HER2/neu-). Частота пухлин із фенотипом CSC у межах кожного молекулярного підтипу була найбільшою у хворих на РМЗ базального підтипу (перевищувала 40%), тоді як у пацієнтів із лумінальним А та Б підтипом вона не досягала відповідно 20 і 30%. Відзначено збільшення кількості пухлин із маркерами CSC при низькому ступені диференціювання порівняно з високим і помірним, а також тісний зв'язок між частотою таких клітин у хворих з метастазами у регіонарних лімфатичних вузлах (коефіцієнт асоціації = 0,943, p < 0,05).

Висновки. Встановлено міжпухлинну гетерогенність РМЗ різних молекулярних підтипів за експресією маркерів CSC. Визначення пухлин з маркерами CSC може бути додатковим молекулярно-біологічним критерієм для поглибленої біологічної характеристики РМЗ різних молекулярних підтипів, а значна кількість CSC — предиктивним показником індивідуальної потенції пухлин до метастазування.

НОВІ ПІДХОДИ У ВИЗНАЧЕННІ ХРОМОСОМНОЇ НЕСТАБІЛЬНОСТІ В СОМАТИЧНИХ КЛІТИНАХ ОНКОХВОРИХ

В.М. Шкарупа, Л.В. Неумержицька, С.В. Клименко

ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини
НАМН України», Київ
Shkarupa_vlad@bigmir.net

Вступ. Підвищений рівень аберацій хромосом у соматичних клітинах людини вважається фактором ризику канцерогенезу. Однак аналіз даних літератури вказує на неоднозначність зв'язку між частотою аберацій хромосом у лімфоцитах периферичної крові людини та захворюванням на рак при різних етіологіях, зокрема при раку щитоподібної залози (РЩЗ), що свідчить про необхідність більш детальних досліджень у цьому напрямі. Одним із нових підходів до оцінки хромосомної нестабільності може бути статистичний аналіз поклітинного розподілу аберацій, який дозволяє визначити різні механізми їх утворення.

Мета: дослідження частоти аберацій хромосом і характеру їхнього поклітинного розподілу в культурі лімфоцитів периферичної крові хворих на РЩЗ.

Об'єкт і методи. Проведено метафазний аналіз аберацій хромосом у культурі лімфоцитів периферичної крові хворих на РЩЗ (42 особи). Контрольну групу становили донори без онкопатології (15 осіб). Виконували також аналіз ретроспективних даних літератури щодо поклітинного розподілу аберацій в осіб без онкологічного захворювання. Емпіричні розподіли порівнювали з теоретич-

но очікуваному частотою розподілу Пуасона (П) і геометричного (Г) розподілу та їх компаунду (П + Г).

Результати. Середньогрупова частота пошкоджень хромосом у лімфоцитах хворих на РЩЗ становила $3,73 \pm 0,23$ аберації на 100 клітин і достовірно не перевищувала рівень спонтанного мутагенезу в контрольній групі — $2,61 \pm 0,39$ аберації на 100 клітин.

Найбільш адекватно поклітинний розподіл аберацій хромосомом у хворих на РЩЗ описувався не одним з дискретних розподілів — П чи Г, а їх компаундом (П + Г). В основі останньої моделі лежить припущення про існування двох субпопуляцій клітин. В одній — розподіл П, що описує випадки рідкісних незалежних подій (саме такий розподіл найбільш характерний при спонтанному мутагенезі у здорових осіб і при радіаційному мутагенезі). В іншій — розподіл Г, що описує випадки, коли поява одного пошкодження може призводити до пошкоджень в інших локусах геному. Вважають, що такий тип розподілу є наслідком мутацій у генах, які відповідають за репарацію та реплікацію. Середньогрупова частка субпопуляції клітин із Г розподілом для хворих на РЩЗ становила 18,92% і була значно більш навантажена абераціями (0,177 аберації на клітину), ніж клітини із П типом розподілу (0,002 аберації на клітину). У контрольній групі частка клітин із Г типом розподілу становила 5,8%. Теоретично очікувана частота аберацій у Г-субпопуляції контрольної групи становила 0,227 аберації на клітину, а частка клітин без аберацій у цій субпопуляції — 81,48%. Зазначені особливості зумовлюють те, що за критерієм загальної частоти аберацій для всієї популяції лімфоцитів виявлені закономірності не завжди верифікуються. Аналіз на індивідуальному рівні показав, що частка Г-субпопуляції у хворих на РЩЗ коливається в межах від 8,17 до 71,60% і не корелює із показником загальної частоти аберацій.

Разом із тим, за результатами статистичного аналізу ретроспективних даних літератури, у здорових осіб частка субпопуляції клітин Г не перевищувала 1–2%, що вказує на підвищений рівень хромосомної нестабільності в осіб дослідженої нами контрольної групи.

Висновки. Популяція лімфоцитів периферичної крові досліджених хворих на РЩЗ характеризується високою, порівняно з особами без онкопатології, часткою субпопуляції клітин із підвищеним рівнем хромосомної нестабільності, незважаючи на відсутність достовірних відмінностей за критерієм загальної частоти аберацій хромосомом.

ВПЛИВ КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ РАДИКАЛ- ГЕНЕРУЮЧОЇ СИСТЕМИ, NO ТА ІНГІБОРИВ СИНТЕЗУ ПОЛІАМІНІВ НА СИГНАЛЬНІ ШЛЯХИ ПРОЛІФЕРАЦІЇ Й АПОПТОЗУ

В.О. Шляховенко, С.П. Залеток, В.М. Михайленко, В.С. Мосієнко,
М.О. Дружина, С.В. Гоголь, О.О. Кленов, О.А. Самойленко,
А.В. Вербиненко, О.В. Карнаушенко, В.О. Міліневська,
Л.І. Маховецька, О.А. Главін

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ
enzym113@gmail.com

Вступ. Відомо, що більшість протипухлинних препаратів реалізують цитостатичну дію шляхом індукції активних вільних радикалів. У зв'язку з цим виникає можливість створення нових протипухлинних засобів шляхом застосування бінарних окисно-відновних систем, компоненти яких можуть бути нетоксичними або малотоксичними.

Мета: дослідити вплив радикал-генеруючої системи та оксиду азоту на ріст експериментальної карциноми легені Lewis та сигнальні шляхи апоптозу за умов блокування синтезу поліамінів.

Об'єкт і методи. Оцінка швидкості пухлинного росту, цитостатичного ефекту, визначення рівня поліамінів, продукції активних форм кисню, активності ферментів, імуноферментні методи.

Результати. На основі вивчення окисно-відновних процесів із застосуванням нетоксичних або малотоксичних компонентів створено бінарні системи, що продукують активні форми кисню і можуть бути застосовані *in vivo*. ROS-генеруючі системи побудовані з використанням аскорбінової кислоти (відновник) та іонів металу (Fe⁺⁺ або Cu⁺⁺), чи органічних структур (окислювач), виявляють затримку пухлинного росту та низку змін у метаболічних сигнальних шляхах, відповідальних за проліферацію, або розвиток апоптотичних змін у пухлинних клітинах. Загибель пухлинних клітин відбувається раніше і за менших концентрацій досліджуваних речовин порівняно зі здоровими клітинами організму. Вплив

ROS-генеруючої системи супроводжується пригніченням рівня та активності орнітиндекарбоксилази у пухлинних клітинах, зниженням рівня поліамінів, модифікацією вмісту білка p-53, Bcl-xL, iNOS та ін. Застосування ROS-генеруючих систем на основі фероцену або наночастинок оксиду заліза супроводжується активацією макрофагів та підвищенням активності рибонуклеаз селезінки, що свідчить про опосередковану дію з участю фізіологічних захисних систем організму. Досліджувані ефекти зростають при застосуванні інгібіторів обміну поліамінів і газоподібного NO.

Висновок. Створені малотоксичні бінарні системи на основі аскорбату та перехідних металів, або органічних сполук (менадіон), здатні затримувати розвиток пухлинного процесу. Протипухлинний ефект супроводжується пригніченням активності орнітиндекарбоксилази, зниженням рівня поліамінів та активацією шляхів апоптозу. Результати досліджень можуть бути використані для створення нових засобів протипухлинної терапії.

ЕЛЕКТРОКІНЕТИЧНІ І ПРОЛІФЕРАТИВНІ ВЛАСТВОСТІ КЛІТИН LLC ТА ЇХ ЗАЛЕЖНІСТЬ ВІД МЕТАБОЛІЗМУ АРГІНІНУ ТА ПОЛІАМІНІВ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Ю.В. Яніш¹, М.В. Гончар², С.В. Гоголь¹, О.О. Кленов¹, В.В. Бейтрад¹

¹Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.С. Кавецького НАН України, Київ

²Інститут біології клітини НАН України, Львів
falka@onconet.kiev.ua

Вступ. Поліаміни відіграють важливу роль у проліферації, зокрема — злоякісно трансформованих клітин. Попередником їх синтезу є аргінін, з якого утворюється орнітин, з орнітину — путресцин і надалі — інші поліаміни. Вони мають позитивний електричний заряд, який викликає зміни сумарного поверхневого заряду клітини в разі експресії поліамінів на її поверхні внаслідок різноманітних впливів. Значення і знак сумарного поверхневого заряду, як і залежний від нього ζ -потенціал, відіграють певну роль у генералізації злоякісного процесу, впливаючи на адгезію під час дисемінації пухлинних клітин, а також модулюють ефективність неспецифічного захисту організму та клітинного імунітету, позначаючись на успішності взаємодії клітин-мішеней і клітин-ефекторів.

Мета роботи: дослідити вплив блокування синтезу поліамінів та інгібування аргінази на: 1) ζ -потенціал та сумарний поверхневий заряд клітин карциноми легень Льюїс (Lewiss lung carcinoma — LLC) в експериментах *in vivo*; 2) ріст культури клітин лінії LLC *in vitro*.

Об'єкт і методи. Використано інгібітори рівня поліамінів α -диформетилорнітин (α -ДФМО) та метилглюксаль-бісгуанілгідрозон (МГБГ), а також нораргінін. Перший пригнічує активність орнітиндекарбоксилази (ОДК), другий — активність S-аденозилметіонін-декарбоксилази (S-АМДК), також задіяної в утворенні спермидину та сперміну на основі путресцину. Нораргінін знижує активність аргінази, за участю якої утворюється орнітин. ζ -Потенціал обчислювали, виходячи з рівняння Смолуховського, в яке підставляли отримані експериментально значення лінійної швидкості руху клітин в електричному полі з відомим градієнтом напруженості.

Результати. Продемонстровано, що нораргінін і МГБГ знижують від'ємний поверхневий заряд клітин LLC *in vivo*, тоді як α -ДФМО діє на нього у протилежному напрямі. Цитостатична дія α -ДФМО у культурі клітин лінії LLC вірогідно потенціюється зовнішнім впливом аргінази чи аргініндезмінази.

Висновки: 1. Одержані дані мають перспективне значення в плані використання аргінази й аргініндезмінази разом із α -ДФМО для пригнічення росту експериментальної аденокарциноми легень. 2. Затримка синтезу поліамінів на певних його етапах надає дослідникам нові важелі впливу на процес метастазування шляхом зміни поверхневого заряду пухлинної клітини.

COMPARISON OF EFFECTS OF PROTEIN KINASES INHIBITOR MALEIMIDE DERIVATIVE AND ITS COMBINATION WITH PHORBOL-12- MYRISTATE-13-ACETATE ON U937 CELLS

I.V. Byelinska¹, L.V. Garmanchuk¹, L.I. Ostapchenko¹, V.K. Rybalchenko¹

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv
byelinska@univ.kiev.ua

Background. Proliferation of tumor cells and its microenvironment (include monocytic cells) is provided high activity of signal transduction proteins: EGF-R, FGF-R1, VEGFR1, 2, 3, PDK1, Syk, Src and other protein kinases. Maleimide derivative (1-(4-Cl-benzyl)-3-Cl-4-(CF₃-phenylamino)-1H-pyrrole-2,5-dione; MI-1) synthesized in Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine) is a competitive inhibitor of indicated kinases. MI-1 *in vitro* inhibits proliferation of the colon cancer cells and monocytic cells, and *in vivo* decreases the number of colon tumors and normalizes the increased number of monocytes and platelets in the blood of rat with chemically induced colon carcinogenesis.

The **aim** of this study is comparison of the effects of MI-1 and its combination with agonist protein kinase C phorbol-13-miristat-13-acetate (PMA) on the morphofunctional state of U-937.

Object and Methods. Cells U-937 were incubated in RPMI-1640 («Sigma», USA) with 10% FBS («Sigma»), 2 mM Glutamine and 40 µg/ml Gentamicin, 5% CO₂, 100 humidity, 37 °C. MI-1 at final concentration of 0.008 mM or 0.016 mM and in combination with 100 nM phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) were added after the 24 h of cell adaptation and incubated for 24 or 48 h. The number of live and dead cells was calculated in hemocytometer with 0.1% trypan blue staining. Percent of cells in apoptotic, mitotic or necrotic stage was calculated per 1000 cells in cytospin prepared specimens after Pappenheim's stained. The data were statistically processed using Student *t*-test. Mean and standard deviation are presented.

Results. MI-1 at the concentration of 0.008 mM in combination with 100 nM PMA reduce proliferation of U937 by 39% ($p = 0.002$) vs. MI-1 only; at the 0.016 mM and PMA — by 41% ($p = 0.001$) after 24 h of exposure. Extension of treatment for 48 h with 0.008 mM of MI-1 and PMA reduces proliferation by 62% ($p < 0.0001$) vs. MI-1 only, but in concentration 0.016 mM — the number of cells is higher ($p < 0.028$) probably due to prolongs the lifetime of the cells.

Number of apoptotic cells is increased after treatment with MI-1 at the 0.016 mM with PMA ($p = 0.022$) vs. MI-1 only after 24 h of exposure (at the 0.008 mM with PMA does not differ) and it is increased after 48 h of exposure of MI-1 at both concentration in combination with PMA ($p < 0.001$; $p = 0.001$, respectively) vs. MI-1 only.

MI-1 at the 0.008 mM with PMA tended to reduce the number of mitotic cells ($p = 0.082$) and reduces at the 0.016 mM ($p = 0.003$) vs. MI-1 only after 24 h of exposure. 48 h of exposure of PMA and MI-1 at the 0.008 mM reduces by 48% ($p = 0.030$), at the 0.016 mM tended to reduce it (by 36%; $p = 0.070$).

The number of necrotic cells after 24 h of exposure of MI-1 at the 0.008 mM with PMA ($p = 0.004$) is lower from the MI-1 only and increased at 0.016 mM ($p = 0.029$); after 48 h of exposure it is reduced at the 0.008 mM with PMA ($p = 0.021$) and the same time at the 0.016 mM ($p = 1.00$) does not differ vs. MI-1 only.

Conclusion. MI-1 in combination with PMA enhances oppression of proliferation of U937 compared with MI-1 only due to enhances of apoptosis and reduction of mitotic activity. MI-1 have combine effect on cancerogenesis through inhibition of proliferation of both solid tumor and microenvironment cells.

SECONDARY TUMORS OF RADIATION GENESIS

E.A. Domina

R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology
and Radiobiology, NAS of Ukraine, Kyiv
edjomina@ukr.net

The irradiation of healthy tissues during radiotherapy of primary cancer may cause radiation carcinogenesis — secondary tumors in 10% of cases. The degree of risk of secondary cancer depends on the age of the patient, the type of primary tumor, and the method of irradiation. The presence of inflammation increases the radiosensitivity of cells, which raises the risk of secondary cancer of radiation origin. Little attention has been paid to the study of genetic changes in non-malignant cells of cancer patients before and after radiation treatment.

Object and Methods. This study uses the model of peripheral blood lymphocytes from the patients with primary gynecological cancer and metaphase analysis of chromosome aberrations prior to the anticancer therapy.

Results. It is shown that the level of chromosomal aberrations exceeds the value of the population index: variation in the range of 5.0 ± 0.7 — 11.0 ± 1.1 aberrations / 100 metaphases with the group average value of 7.0 ± 0.8 / 100 metaphases. The observed increase in chromosomal changes in the lymphocytes of patients may indicate the formation of chromosomal instability in the cells as a result of carcinogenesis, which acts as a source of oxidative stress. Under the test irradiation of cell cultures of patients in

the low dose (0.3 Gy), the frequency of aberrations increase in 1.5 times, including those by exchanges.

Conclusion. It is important to note that the formation of radiation-induced chromosome aberrations is associated with the change in the structure and activity of oncogenes, involved in malignant transformation of cells. This proves the necessity to ensure a minimal radiation exposure of healthy tissues with the maximum damage (devitalization) of tumor cells.

THE COMPLEXITIES OF THE CONDUCT OF RADIATION-EPIDEMIOLOGICAL STUDIES AND PREVENTION OF RADIOGENIC CANCER

E.A. Domina

*R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine, Kyiv
edjovina@ukr.net*

Epidemiological studies make a significant contribution to the definition of the role of ionizing radiation in the genesis of cancer. The National Report of Ukraine on the basis of a 25-year period after the Chernobyl accident indicates a risk of further increase in the frequency of cancer amongst irradiated individuals.

The conduct of radiation-epidemiological studies in the post-Chernobyl period is accompanied by further difficulties:

- the need for long-term monitoring of exposed cohort due to the long latency period between exposure and clinical manifestation of cancer;
- the reliability of the registration system of the causes of cancer-related deaths;
- the difficulty of assessing the value of radiation dose for each individual;
- the choice of an adequate comparison group;
- the errors of physical dosimetry;
- insufficient statistical power of the study.

In some cases, radiobiology research is the sole basis for the interpretation of epidemiological data. Epidemiology of radiogenic cancer on the basis of post factum gives a generalized assessment of the development of this pathology. This drawback can be overcome by evaluating individual radiation sensitivity using the cytogenetic methods G2-radiation sensitivity assay.

The analysis of epidemiological data and radioecological situation occurred due to the Chernobyl accident in Ukraine, proves the need to develop new approaches to the prevention of radiogenic cancer. In this regard, we have developed a new strategy for the primary prevention of radiogenic cancer based on the cytogenetic studies (test system of peripheral blood lymphocytes, analysis of chromosome aberrations). It includes the following steps:

- assessment of individual radiation sensitivity amongst healthy segment of population; it will help to distinguish the segment with increased risk of radiogenic cancer;
- record of exposure to mutagens;
- use of non-toxic effective radioprotectors.

COMBINED EFFECTS OF HUMAN BETA-DEFENSINS ON TUMOR CELL VIABILITY *IN CELLULO*

O.L. Gerashchenko, O.I. Boydunik, M.A. Soldatkina, P.V. Pogrebnoy

*R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine, Kyiv
pogrebnoy@onconet.kiev.ua*

Background. It is known that deregulated expression of human beta-defensins (hBDs) is closely related to the development of some tumor types. In normal state, expression of hBDs, multifunctional peptide antibiotics and important components of innate immunity, may be constitutive as in the case of hBD-1, or inducible as in the case of hBD-2, -3 and -4. As we have shown earlier with the use of the recombinant peptides, inducible hBD-2-4 are characterized by special spectra of potent biologic activity and are capable to affect tumor cell proliferation, viability and potential of malignancy such as migration activity and substrate-independent growth. The present study demonstrates the first attempt for investigation of possible synergy or antagonism between hBDs in relation to tumor cell viability *in cellul*o.

Aim. The aim of the study was to analyze expression profile of hBDs in cultured human tumor cells of different types and to evaluate the combined effects of recombinant hBD-2-4 toward tumor cell viability *in cellul*o.

Object and Methods. The study was performed with the use of 9 human cell lines: melanoma (mel Z and mel Is), thyroid cancer (KTC-2, TPC1 and WRO), lung adenocarcinoma (A549), epidermoid carcinoma

(A431), Burkitt's lymphoma (Namalwa), T-cell leukemia (Jurkat). Expression of hBD-1-4 mRNA in these cells lines was studied with the use of semiquantitative RT-PCR. Combined effects of recombinant hBD-2-4 on cell viability were analyzed by MTT.

Results. It has been shown that each studied cell line is characterized by individual profile of hBD expression. In particular, mel Z cells express hBD-1-4 mRNA, while in mel Is cells expression of hBD-1 and hBD-2 has been registered. In thyroid cancer cells, expression of hBD-1, -3, -4 has been detected, but hBD-2 mRNA was undetectable. While Namalwa and Jurkat cells are characterized by expression of hBD-1, -2, and -3, in A431 and A549 cells there was observed an expression of hBD-1 mRNA only.

To study the combined effects of inducible hBDs toward tumor cell viability, A431 cells were incubated with paired combinations of different hBDs at nanomolar concentrations for 48 h. According to the data of MTT, inducible human beta-defensins are capable to enhance (hBD-3 vs hBD-2 or hBD-2 vs hBD-4) or attenuate (hBD-3 vs hBD-4) effects of each other toward cultured tumor cell viability.

Conclusion. The results of the study point on capability of inducible hBDs to potentiate or diminish an influence of each other on viability of tumor cells *in cellul*o. As far as each tumor cell line possesses individual profile of hBD expression, it's tempting to speculate that summarizing effect of beta-defensins expressed in particular tumor cell line could affect other biologic patterns of the cells including their proliferation rate and potential of malignancy.

mTOR-SIGNALING PARTICIPATION IN MCF-7 CELLS MOTILITY MODULATION BY PARACRINE INFLUENCE OF HUMAN DERMAL FIBROBLASTS *IN VITRO*

N.Ya. Gotsulyak, A.I. Khoruzhenko

*Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine, Kyiv
nazariy.gotsulyak@gmail.com*

Introduction. Fibroblasts are predominant cellular component of tumor microenvironment that plays a central role in regulation of cancer progression by generation of a variety of different soluble signaling molecules (Peng Q., 2013). Perception and transformation of such extracellular signals by cancer cells performs via variety of cell signaling systems and in particular by mTOR signaling that is one of the most important regulator of carcinogenesis processes including growth, proliferation and migration (Wataya-Kaneda M., 2015).

Aim. The main aim of this study was to reveal the influence of human dermal fibroblasts on MCF-7 cancer cells motility and involvement of mTOR signaling in molecular mechanism of this effect.

Object and Methods. Paracrine influence of human dermal fibroblasts on MCF-7 cells was estimated in course of MCF-7 cells cultivation with 20% fibroblasts conditioned medium. Change in mTOR and S6K1 phosphorylation status was detected by immunoblotting of lysates of MCF-7 cells after 24 and 48 hours incubation with fibroblast conditioned medium in comparison with intact MCF-7 cells. Scratch test was applied to measure cell motility of MCF-7 cells under influence of 20% fibroblasts conditioned medium, 10 nM rapamycin (specific mTOR-kinase inhibitor) or combination of these factors. Analysis of obtained results was performed with using Image Lab 2.0.1 and Icy 1.4.3.5.

Results. It was detected that MCF-7 cells cultivation during 24 hours with 20% human dermal fibroblasts conditioned medium led to significant increase of phosphorylation status of the key links of mTOR-signaling network by marker regulatory phosphorylation sites, namely: mTOR kinase by Ser-2448, p85-S6K1 by Thr-389, p70-S6K1 by Thr-389 and Ser-371. But after 48 h of such incubation the level of mTOR/S6Ks phosphorylation decreased and become even lower than in intact cells which could be associated with conditioned medium depletion. Also, it was determined substantial increase of mTOR kinase protein expression after 48 hours of conditioned medium effect whereas any change in p70-S6K1 and p85-S6K1 protein expression was not detected. These differential effects need more detailed clarification and verification. Observed effects of fibroblasts conditioned medium are accompanied by decrease of cancer cell motility in scratch test. The deceleration of MCF-7 cells migration by fibroblasts was similar to that caused by treatment of 10 nM rapamycin and even similar to motility decrease caused by treatment by both factors simultaneously. Accordingly to obtained results the fibroblast influence on cancer cell signaling (with concomitant activation of mTOR signaling) as well as specific inhibition of mTOR/S6K signaling in MCF-7 cells by rapamycin lead to the same effect — cancer cell motility decrease. Such effects of fibroblasts conditioned medium and rapamycin on cancer cell

motility was observed under starvation conditions but this effect was less pronounced as well as cell motility. At the same time effect of combination of these factors has the same level under normal and starvation conditions that may demonstrate more complex mechanism of combined action that makes cell motility less sensitive to nutrient stimulation.

Conclusion. Paracrine influence of human dermal fibroblasts may have a deterrent effect on breast cancer cell motility via molecular mechanism which involved mTOR signaling network.

COMPARATIVE EVALUATION OF RECEPTOR STATUS OF PRIMARY TUMORS, METASTASIS, RECURRENCE AND CIRCULATING CANCER CELLS IN BREAST CANCER PATIENTS

A.A. Kovalev, T.V. Grudinskaya, D.A. Tsvietaieva-Berest

State Institution «Zaporizhzhya Medical Academy of Postgraduate Education of the Ministry of Health of Ukraine», Zaporizhzhya
0503221530@ukr.net

Objective: to study the influence of phenotypic heterogeneity of a primary tumor, metastases and circulating cancer cells at different stages of tumor progression as a cause of therapeutic resistance in breast cancer patients.

Objects and Methods. The study involved 120 patients with operable breast cancer with the stage $T_{1-4}N_{0-3}M_{0-1}$ at the age of 32–80 years (average age — 59.49 ± 1.08 years). The patients were divided into 3 groups according to the staging of the disease: 1) the I group — $T_{1-4}N_{1-2}M_0$ (breast tumor + metastasis in one or more regional lymph nodes); 2) the II group — $T_{rec}M_{0-1}$ (recurrences or distant metastases in breast cancer patients); 3) the III group — $T_{rec}M_{0-1}(i+)$ (circulating cancer cells in the blood of breast cancer patients). The tissue samples taken from 93 patients (60 persons of the I group and 33 persons of the II group) were test material in the I and II group. 120–150 ml of venous blood taken from 27 patients was test material in the III group.

Results. The objective reduction of estrogen (14.7%; $p < 0.05$) and progesterone (16.81%; $p < 0.05$) receptor expression is observed in distant metastasis and late recurrence foci as compared to the primary tumor. The objective increase in Her/2neu expression level (59.8%; $p < 0.01$) was noted in the distant metastasis and late recurrence foci. The immunophenotype of CTCs in 52% ($p < 0.05$) cases does not correspond to the immunohistochemical status of the primary tumor due to appearance of estrogen and progesterone negative cells in blood, which may be caused by biological heterogeneity of CTCs and imperfection of methods of detecting CTCs in blood.

Conclusions. As the disease progresses in the foci of breast cancer metastases and recurrences, the level of estrogen and progesterone receptor expression is reduced and Her/2neu expression level is increased. In most cases the immunophenotype of CTCs does not correspond to the immunohistochemical status of a primary tumor. In order to customize the treatment it is appropriate to determine the receptor status of cells in each focus of recurrence or metastasis, as well as the one of CTCs.

LONG-TERM IMPACT OF ENVIRONMENTAL FACTORS ON DNA DAMAGE AND THEIR ROLE IN GENETIC INSTABILITY AND NEOPLASTIC PROCESS

I.I. Muzalov, V.M. Mikhailenko

R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine, Kyiv
imuzalov@mail.ru

Introduction. Genetic instability plays an essential role in the initiation and progression of tumor process. It results in the origination of mutations in cell DNA and may lead to development and progression of neoplastic process. The genome of tumor cells is characterized by genetic instability at the level of karyotype — as changes in the chromosomes number and structure, and at molecular level — as significantly increased number of DNA alterations, oxidized and nitrosated bases, nucleotide substitutions, insertions and deletions. The main peculiarity of modern lifestyle is chronic impact of adverse environmental factors on the human organism. Each of them is able to increase the overall pathogenic effect. These factors cause long-term effects, manifested in the form of cancer pathology. Among the most common environmental pollutants are exogenous nitrogen oxides (NO) and ionizing radiation (IR). The ultimate target, which determines the realization of their direct and indirect effects, is cell DNA.

Aim: in this context, the aim of our study was to determine the separate and joint impact of environmental factors of different nature (NO and IR) on different type of DNA damage in peripheral blood lymphocytes (PBL).

Object and Methods. Effect of NO and/or IR investigated using. The inhalation of C57BL/6 male mice was performed during 8 hours per day at NO concentration 25 mg/m³ of air. Total course lasted for 16 (short-term treatment, ST) and 28 days (long-term treatment, LT). The total dose of X-rays irradiation was 1 Gy (0.1 Gy × 10 times) every third day of experiment. DNA damage was determined by horizontal gel electrophoresis of isolated cells under alkaline and neutral lyses conditions (DNA-comet assay).

Results. It was shown that separate and combined effect of NO and IR led to the formation of DNA damage of two types: single-strand (SSb) and double-strand (DSb) breaks. Irradiation caused 2.2-fold increase of SSb level, and 1.5-fold increase of DSb level. Exogenous NO treatment resulted in 2.8–3.6-fold increase of SSb level and 2.2–2.9-fold increase of DSb amount after ST or LT inhalation, respectively. Further growth of genotoxic effect was observed after joint treatment with NO and IR. ST inhalation of NO combined with fractionated IR significantly increased (3.6-fold) level of SSb as well as DSb (3.4-fold) in DNA of PBL. The highest level of DNA damage was observed under LI after joint effect of both factors: SSb level raised in 4.6-fold, DSb — in 4.3-fold.

Conclusions. The separate and joint impact of environmental factors of different nature caused various types of DNA damage, resulting in a significant increase of genetic instability. The maximum level of DNA damage occurred under the joint action of factors. Prolongation of NO inhalation caused increase of the genotoxic effect in 1.5 times. DNA damaging effect of NO prevailed when combined with fractionated low-dose IR. This fact suggest the ability of environmental NO to enhance malignant process and promote dissemination of tumor cells due to nitrosative stress, development of genetic instability and proangiogenic effect.

PECULIARITIES OF THE NEOPLASTIC PROCESS IN MICE WITH LEWIS LUNG CARCINOMA ON THE BACKGROUND OF ENTEROSORPTION

V.V. Sarnatskaya¹, L.A. Sakhno¹, V.G. Nikolaev¹, L.M. Puziuk², L.A. Yushko¹, O.M. Karaman¹, N.I. Fedosova¹, N.K. Rodionova¹, O.I. Dasyukevich¹, V.N. Maslenny¹, G.V. Didenko¹, G.I. Solyanik¹

¹R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine

²Institute of Biology, Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv
vsnikavera@mail.ru

Introduction. Malignant tumor due to its systemic influence on an organism is capable to induce the development of complex changes in the structure and functions of many organs and systems. Taking into account that carbon enterosorbents possess special properties which make them capable to accelerate regeneration processes in organs and tissues and significantly elevate functional activity of detoxification systems their use could be considered reasonable.

Aim: to study the correcting effects of microgranulated HSGD enterosorbent on hematologic, morphologic and biochemical indices of mice with Lewis lung carcinoma (LLC).

Object and Methods. The study was performed on male C57/BL6 mice with transplanted LLC. Enterosorbent HSGD was administered daily at a dose of 0.625 g/kg for 2 weeks starting from 7th day after tumor cell transplantation. Analyses of hematological and biochemical indices of peripheral blood and morphologic structure of vital organs were carried out by standard methods.

Results. It has been shown that administration of microgranulated HSGD enterosorbent did not alter LLC growth kinetics but resulted in nearly two fold decrease of lung metastases numbers ($p < 0.05$). The treatment led to significant increase of hemoglobin level and hematocrit as well as erythrocyte and platelet counts at average by 20–25% ($p < 0.05$). Biochemical indices of peripheral blood evidenced for the decrease of endogenous intoxication and oxidative stress levels, improved functional state of kidneys and liver, increased resistance of erythrocyte membranes and decreased ligand loading in transport proteins of blood plasma. The data of morphologic examination of kidneys, liver and spleen indicated significant regenerative effect of enterosorption.

Conclusion. Powerful regenerative and detoxificative effects of HSGD enterosorbent application has been evidenced in mice with LLC. This fact coincides with a number of clinical observations demonstrating good potential of enterosorption in the treatment of endogenous intoxications in cancer patients.