

**Государственное учреждение
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
АКУШЕРСТВА И ГИНЕКОЛОГИИ ИМ.Д.О.ОТТА
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК**

**ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ
АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА X**

Кветной И.М., Коновалов С.С., Полякова В.О.

Материал и методы исследования

Пилотные исследования биологической активности препарата X проводились на сертифицированной культуре клеток карциномы поджелудочной железы человека (клон ацинарных клеток, банк клеточных культур Института цитологии РАН).

Клетки культивировали в 24-луночных планшетах ("Costar") при 37°C в атмосфере с 5% CO₂ в среде RPMI 1640 ("Flow") с добавлением 10 % сыворотки эмбрионов теленка ("Sigma"), L-глутамина (300 мкг/мл; "Flow"), HEPES-буфера (0,02 M; "Serva") и гентамицина (100 мкг/мл; "Фармахим"). Исходная концентрация составляла 10⁶ клеток/мл. Каждая проба ставилась в двух повторностях.

Популяции клеток культивировали с препаратом X. Клетки проходили 4 пассажа. Препарат X добавлялся в среду при каждом пассаже клеток в трех дозах: 1 нг/мл, 10 нг/мл, 100 нг/мл.

Биологическую активность препарата X определяли по экспрессии следующих сигнальных молекул:

- хромогранина А (маркер секреторной активности клеток, антитела от Novocastra, 1:250),
- регуляторного белка пролиферации Ki-67 (антитела от Dako, 1:150),
- регуляторного белка апоптоза p53 (антитела от Dako, 1:150).

Цифровую микроскопию и морфометрическое исследование проводили с использованием системы компьютерного анализа микроскопических изображений Nikon Eclipse E400 и программного обеспечения «Видеотест-Морфология 5.0».

В каждом случае анализировали 10 полей зрения при увеличении 400х. Определяли площадь экспрессии, которая представляла собой отношение площади, занимаемой иммунопозитивными клетками к общей площади клеток в поле зрения, выражаемое в процентах. Указанный параметр отражает интенсивность синтеза сигнальных молекул в клетках.

Результаты исследований обрабатывались с помощью компьютерной программы STATISTICA 5.0 (Statsoft).

Результаты исследования

Проведенные исследования показали, что препарат X способен как ослаблять, так и усиливать функциональную секреторную активность ацинарных клеток поджелудочной железы человека, обладая выраженной дозовой эффективностью. Так, при дозе 10 нг/мл препарат в 2 раза ослабляет экспрессию хромогранина А, в то время как в дозе 100 нг/мл он в 3 раза усиливает экспрессию данного маркера.

Результаты исследования показывают, что препарат X обладает выраженной антиапоптозной активностью - в дозах 1 нг/мл и 100 нг/мл он предотвращает апоптоз в 100% клеток, находящихся в популяции.

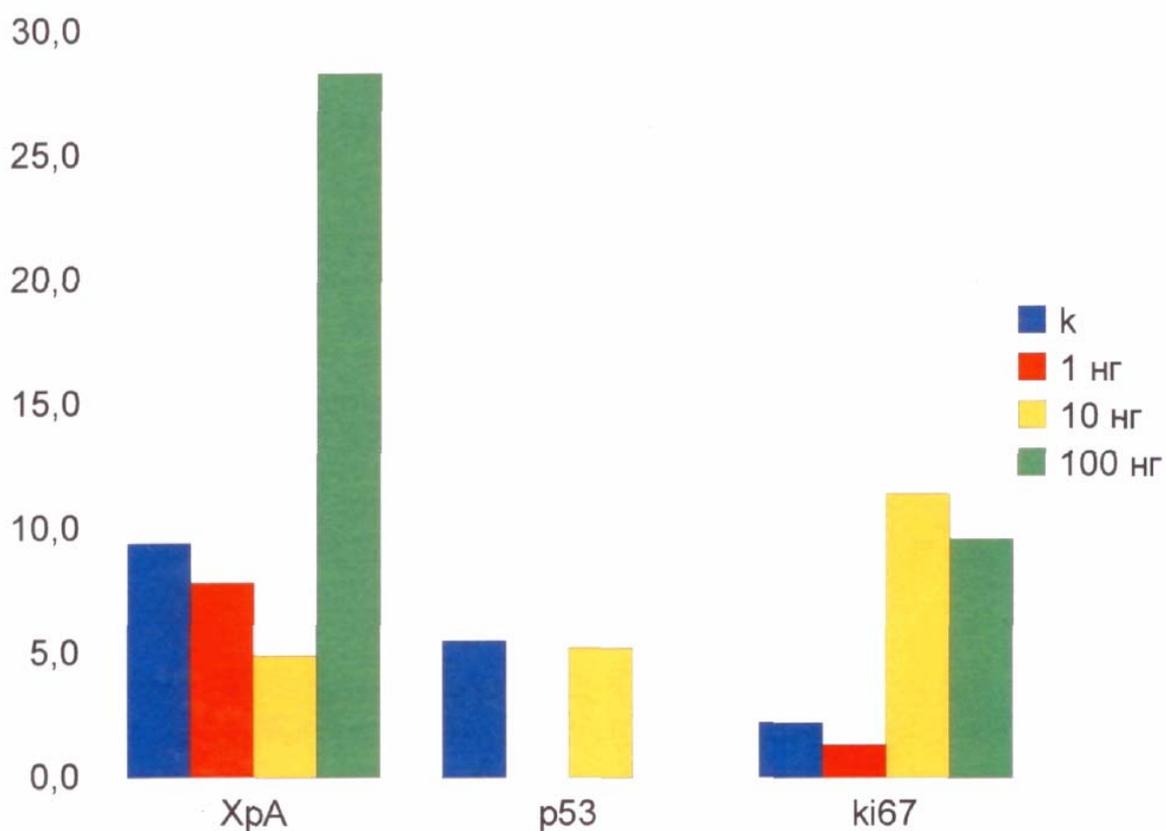
Полученные данные свидетельствуют также о дозовой эффективности препарата X по отношению к пролиферации клеток. В дозе 1 нг/мл препарат X снижает пролиферацию клеток в 1.8 раза, а в дозе 10 и 100 нг/мл усиливает ее. При этом наиболее эффективной оказывается доза 10 нг/мл - при ней препарат усиливает клеточное размножение примерно в 4 раза.

Заключение

Таким образом, результаты проведенных исследований позволяют рассматривать препарат X как высокоэффективный препарат, обладающий разносторонним биологическим и фармакологическим действием, способным оказывать стимулирующее/ослабляющее действие на процессы синтеза и секреции гормонов, предотвращать клеточную гибель и стимулировать/ингибировать пролиферацию клеток.

Выявленная разнонаправленная дозовая эффективность препарата позволяет расширять сферу его применения за счет изменения дозы.

Полученные результаты позволяют считать дальнейшие углубленные исследования биологического и фармакологического действия препарата X несомненно перспективным.



| | К | 1 нг | 10 нг | 100 нг |
|-------|-------|------|-------|--------|
| XpA | 9,4% | 7,8% | 4,9% | 28,3% |
| p 53 | 5,5% | 0% | 5,2% | 0% |
| Ki 67 | 2,19% | 1,3% | 11,4% | 9,6% |