

5. На основании информации, полученной в ГАУЗ СО «ОСБМР «Липовка»», можно сделать вывод, что данная медицинская процедура широко применяется для лечения различных заболеваний и является достаточно эффективной;

6. Напрашивается вывод, что отдаленные стохастические эффекты применения малых доз ионизирующего излучения требуют дальнейшего изучения.

**Литература:**

1. Гусаров И.И. Радонотерапия. Библиотека практикующего врача. – М.: Медицина. – 2000. – 200 с.

2. Маньшина Н.В. Курортология для всех. За здоровьем на курорт. – М.: Вече. – 2007. – С. 127-141.

3. Документация ГАУЗ СО «Областная специализированная больница медицинской реабилитации «Липовка»».

УДК 615.015.35

**Н.В. Дорофеева, В.В. Мелехин, Л.А. Галлямова, О.Г. Макеев  
АНАЛИЗ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ  
АГЕНТОВ ДЛЯ БОРНЕЙТРОНЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ**

Кафедра медицинской биологии и генетики  
Уральский государственный медицинский университет  
Лаборатория технологий генной и клеточной терапии  
Уральский федеральный университет имени первого Президента России  
Б.Н. Ельцина  
Институт медицинских клеточных технологий

**N.V. Dorofeeva, V.V. Melekhin, L.A. Galliamova, O.G. Makeev  
ANALYSIS OF TOXIC OF POTENTIAL AGENTS FOR BORON  
NEUTRON CAPTURE THERAPY OF CANCER**

Department of medical biology and genetics  
Ural state medical university  
Ural federal university  
Institute of medical cell technologies  
Ekaterinburg, Russian Federation

**Контактный e-mail:** larim@mail.ru

**Аннотация.** Рассматриваются особенности потенциальных агентов для борнейтронзахватной терапии опухолевых заболеваний. Приводятся результаты первичной оценки цитотоксического эффекта на культивируемых клетках фибробластического дифферона с определением минимальной токсической дозы.

**Annotation.** The article deals the results of studies of in vitro cytotoxicity of boron containing compounds normal cell culture. It show the minimal toxic concentrations for each agent for using cell lines.

**Ключевые слова:** борнейтронзахватная терапия, клеточные линии.

**Keywords:** boron neutron capture therapy, cell line.

Современные подходы в лечении онкологических заболеваний обуславливают необходимость создания методов, которые бы обеспечили направленное разрушение трансформированных клеток без ущерба для соседних тканей и организма в целом. Такой эффект достигается борнейтронзахватной терапией (БНЗТ), которая уже применяется в медицинских центрах Швеции, Чехии и США, продолжаются исследования в Японии, Аргентине, Англии, Италии, Израиле и начинаются в России. Уникальность методики заключается в избирательной гибели опухолевых клеток, в то время как нормальные клетки, находящиеся в непосредственной близости, остаются неповрежденными.

В результате нейтронного облучения стабильный В-10 захватывает тепловые нейтроны, образуя ядро В-11 в возбужденном состоянии. Снятие возбуждения образовавшегося ядра происходит практически незамедлительно путем его распада на частицы с коротким линейным пробегом, что приводит к взрывоподобному разрушению клеток.

Препараты для БНЗТ должны обладать низкой токсичностью, избирательным проникновением и накоплением в опухолевых клетках. Так как подбор таких веществ требует анализа большого количества борсодержащих молекул, необходимо использовать наиболее быстрые способы, позволяющие определить как количество вещества, которое накапливается в нормальных и трансформированных клетках, так и концентрации, оказывающие минимальный токсический эффект. В связи с этим наиболее эффективными считаются исследования на культивируемых клетках человека.

**Цель исследования** – отработка алгоритма определения минимальной токсической дозы потенциальных препаратов для БНЗТ.

#### **Материалы и методы исследования**

В работе использовали культуру дермальных фибробластов человека (7-12 пассаж). Культура дермальных фибробластов была получена из эксплантата кожи здорового 58-летнего донора мужского пола после подписания им добровольного информированного согласия. Дезагрегацию ткани проводили ферментативным способом по оригинальной методике [1].

Клетки культивировали при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, 95% в инкубаторе (Sanyo, Япония) влажности с ежедневным макро- и микроскопическим контролем с использованием инвертированного микроскопа Olympus CX41 при x40, x200. Смена среды проводилась каждые 3 суток на 60% от общего объема.

Для определения цитотоксического эффекта культивируемые клетки фибробластического дифферона высаживали в чашки Петри с адгезивным

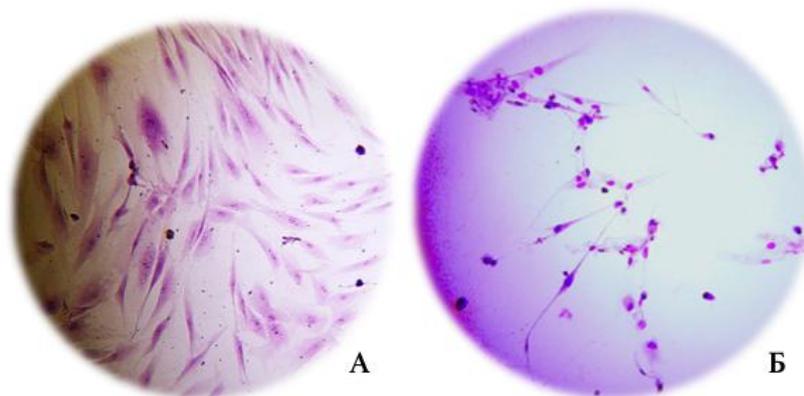
покрытием (Sarstedt). Определение минимальной токсической дозы проводилось в 3 этапа с широким диапазоном концентраций и постепенным выявлением границы между токсической и дотоксической дозами. Для получения достоверных данных в каждой группе использовали 3 повторности. Контрольная группа была представлена интактными фибробластами. В соответствии с рекомендациями международного Номенклатурного комитета по классификации клеточной смерти [3] оценка цитотоксического эффекта основывалась на морфологических критериях. Спустя 24 и 48 часов культивируемые клетки окрашивали по методу Романовского. Визуализацию объектов осуществляли с использованием микроскопа Olympus CX41 при x100, x400, x1000.

Предоставленные для оценки образцы GL-63 и GL-57 были переданы кафедрой Органической и Биомолекулярной химии Химико-Технологического Института УрФУ. Для внесения веществ в культуру их предварительно растворяли в культуральной среде, используемой при работе с исследуемой линией клеток.

#### **Результаты исследования и их обсуждение**

Цитограммы культур контрольной группы представлены фибробластами разной степени дифференцировки. Отмечается преобладание клеток отростчатой формы с выраженными клеточными контактами и хорошо контурированным ядром.

Образец GL-63 оказывал выраженное токсическое действие на культуру фибробластов человека при использовании концентраций выше 1 мкг/мл. Отмечалось ухудшение адгезии клеток, увеличение числа клеток с признаками клеточной смерти: вакуолизацией цитоплазмы, нарушениями структуры клеточной мембраны, пикнозом ядра. Увеличение концентрации вещества сопровождалось преобладанием зрелых клеток фибробластического дифферона. Таким образом, исследуемое вещество может применяться в максимальной концентрации 1 мкг/мл при экспозиции не более 48ч. Результаты



представлены на рисунке 1.

Рис. 1. Культура фибробластов человека через 24 часа после введения образца GL-63. А – концентрация 1 мкг/мл, Б – концентрация 10 мкг/мл. Ув. 100.

При внесении в культуру фибробластов образца GL-57 отмечался выраженный цитотоксический эффект при использовании концентраций вещества выше 15 мкг/мл, что выражалось в ухудшении адгезии клеток, преобладании зрелых фибробластов, вытягивании псевдоподий клеток, пикнозе ядерного аппарата, что представлено на рисунке 2.

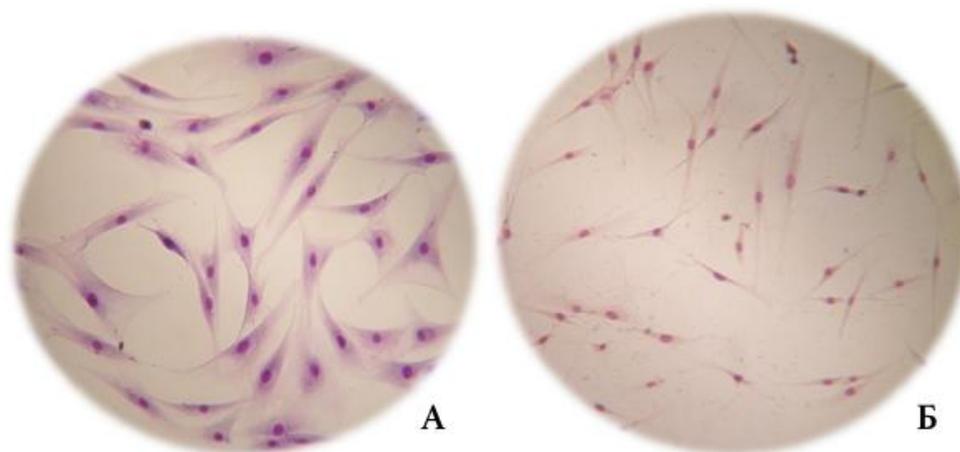


Рис. 2. Культура фибробластов человека через 24 часа после введения образца GL-57. А – концентрация 15 мкг/мл, Б – концентрация 20 мкг/мл. Ув. 100.

Выполненное исследование позволило отработать алгоритм первичной оценки цитотоксичности поступивших веществ, включающий морфологический анализ образцов, установление барьера между дотоксической и токсической концентрациями и допустимого временного диапазона для каждой концентрации.

Полученные результаты свидетельствуют о низком токсическом эффекте образца GL-57 по сравнению с образцом GL-63, что может быть обусловлено различной структурой исследуемых молекул, в том числе пространственным расположением химических групп относительно друг друга. Вероятно относительно высокая токсичность веществ связана с использованием цезия при синтезе образцов с целью повышения водной растворимости веществ.

#### **Выводы:**

1. Определенный в ходе работы алгоритм позволяет получить достоверные данные в сравнительно малые сроки, выявить степень токсичности изучаемых веществ и обозначить направления дальнейших исследований;

2. Применение образца GL-63 в концентрации 1 мкг/мл и образца GL-57 в концентрации 15 мкг/мл при экспозиции не более 48 часов допустимо на клеточных линиях человека. Полученные данные позволят сократить продолжительность выявления LD<sub>50</sub> в серии экспериментов на животных, а

также установить накопление исследуемых веществ в нормальных и опухолевых клетках.

**Литература:**

1. Макеев О.Г. Патент № 2345781 «Способ получения культуры клеток кожи» / О.Г. Макеев, А.И. Улыбин, П.С. Зубанов // Бюллетень изобретений № 4, 10.02.2009.
2. Фрешни Р.Я. Культура животных клеток. Практическое руководство; пер. 5-го англ.изд. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010. – 691 с.
3. Kroemer G. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009 // Cell.Death.Diff. – Vol.16. – P.3-11.

УДК 617-089.844

**Е.В. Вихарева, А.В. Дубинина, В.А. Плотникова, С.Н. Горбаченко  
ВЛИЯНИЕ АНЕСТЕЗИРУЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ НА НЕРВНУЮ  
СИСТЕМУ И ПОСЛЕДУЮЩЕЕ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОЕ  
ВОССТАНОВЛЕНИЕ**

Кафедра нормальной физиологии  
Уральский государственный медицинский университет  
Екатеринбург, Российская Федерация

**E.V. Vihareva, A.V. Dubinina, V.A. Plotnikova, S.N. Gorbachenko  
INFLUENCE OF THE ANESTHETIZING PREPARATIONS ON  
NERVOUS SYSTEM AND THE SUBSEQUENT POSTOPERATIVE  
RESTORATION**

Department of normal physiology  
The ural state medical university  
Ekaterinburg, Russian Federation

**Контактный e-mail:** vev1996@mail.ru

**Аннотация.** В статье рассмотрены влияние общей анестезии на центральную нервную систему, осложнения непосредственно во время операции, в ранний и поздний послеоперационные периоды. Так же представлено небольшое исследование и выводы по времени восстановления физиологических функций после операции.

**Annotation.** In article complications are considered influence of the general anesthesia on the central nervous system, directly during operation, during the early and late postoperative periods. Small research and conclusions on time of restoration of physiological functions after operation is also presented.

**Ключевые слова:** анестезия, ЦНС, послеоперационный период.

**Keywords:** anesthesia, CNS, postoperative period.