

Секция V

ГЕНОМИКА И ЭПИГЕНОМИКА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ: ОТ ЭКСПЕРИМЕНТА К ПРАКТИКЕ

Молекулярно-генетические особенности ангиомиолипомы почки

К.И. Аношкин^{1,2}, Е.Б. Кузнецова^{1,3},
К.М. Мосякова³, А.С. Танас^{1,2}, М.С. Чаплыгина¹,
Е.А. Алексеева¹, Е.В. Шпот³, Д.В. Залетаев¹⁻³,
А.З. Винаров³, В.В. Стрельников^{1,2}

¹ФГБНУ МГНЦ, Москва;

²ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский
медицинский университет им. Н.И. Пирогова»
Минздрава России, Москва;

³ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова»
Минздрава России

Поражение почек при туберозном склерозе (ТС) является третьей по распространенности патологией после поражений нервной системы и кожи и затрагивает примерно 85 % пациентов. Наиболее частым повреждением почек при ТС является ангиомиолипома (АМЛ), которая присутствует примерно у 70 % пациентов с патологией почек.

Поскольку ТС является генетическим заболеванием, ассоциированным с мутациями в генах *TSC1* и *TSC2*, мутационное профилирование АМЛ до сих пор ограничивалось лишь этими 2 генами. Нами впервые проведен скрининг мутаций широкой панели генов, которые вовлечены в опухолеобразование, в крови и операционном материале больных с АМЛ методом высокопроизводительного параллельного секвенирования.

В опухолевых образцах обнаружены мутации в общей сложности в 30 генах из 409 исследованных. Выявлены мутации гена *TSC2* как герминативной, так и соматической природы. Наибольшее количество нуклеотидных замен в ДНК опухолей обнаружено в протоонкогене *ROS1*. Они представляют собой миссенс- и нонсенс-мутации и выявлены нами впервые, за исключением минорного аллеля редкого генетического полиморфизма rs34203286 (частота в популя-

ции 0,2 %). Более чем в 1 образце обнаружены генетические варианты генов *LAMP1* и *RAD50*, которые кодируют белки, участвующие в регуляции роста, метаболизма и жизнеспособности клеток.

Замечено, что все обследованные нами пациенты являются носителями полиморфизма (с.G1094A: p.R365H; частота в общей популяции не превышает 9 %) в гене системы цитохрома P450 *CYP2D6*. Белок CYP2D6 задействован в метаболизме примерно 25 % всех лекарственных средств, метаболизируемых цитохромами. Это наблюдение заставляет обратить внимание на роль соответствующего белка в этиопатогенезе заболевания, а также учитывать генетический статус CYP2D6 при назначении лекарственной терапии.

Дальнейший поиск и характеристика мутаций представляются перспективным направлением для разработки эффективной терапии АМЛ, в том числе таргетной, а также будут способствовать профилактике заболевания за счет возможности его раннего обнаружения.

Функциональная геномика в разработке биомаркеров светлоклеточного почечно-клеточного рака при анализе потенциальных генов-мишеней таргетной терапии

Н.В. Апанович¹, М.В. Петерс², А.С. Маркова²,
П.В. Апанович, Б.Ш. Камолов², В.Б. Матвеев²,
А.В. Карпухин¹

¹ФГБНУ МГНЦ, Москва;

²ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Изучена экспрессия потенциальных генов-мишеней таргетной терапии почечно-клеточного рака (ПКР)

(*VEGFR1*, *VEGFR2*, *VEGFA*, *PDGFR α* , *PDGFR β* , *EGFR*, *PTEN*, *PI3K*, *AKT*, *mTOR*, *RAF1*, *STAT3*, *RPS6*) при различных характеристиках выживаемости больных. С наибольшей частотой повышали экспрессию гены сосудистого эндотелиального фактора роста (*VEGFR1*, *VEGFR2* и *VEGFA*), из них чаще всего — ген *VEGFA* (в 53 % образцов). Хотя бы один из генов, стимулирующих ангиогенез, имел повышенную экспрессию в 70 % образцов.

Около трети больных за время наблюдения умерли, причем основное число смертей произошло в течение 3,5 года. Среди отдельных частот в профиле экспрессии генов умерших в течение указанного периода и проживших дольше этого срока обнаружено значимое различие для экспрессии гена *VEGFA* ($p = 0,001$), отношение шансов 21,86. Применение регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса также продемонстрировало значимую связь выживаемости больных ПКР с экспрессией гена *VEGFA*. Относительный риск ранней смерти, связанный с уровнем экспрессии гена *VEGFA*, оказался значимо повышенным: отношение рисков 3,09; 95 % доверительный интервал (ДИ) 1,60–5,95; $p = 0,0008$. Чувствительность такого маркера 3,5-летней выживаемости составила 90 % (95 % ДИ 55,50–99,75). С высокой вероятностью, составляющей 94,44 %, потенциальный маркер может предсказывать выживаемость более 3,5 года (95 % ДИ 72,71–99,86).

Проанализированы характеристики координации действия генов на уровне транскрипции. Прежде всего, обращает на себя внимание более высокая степень координации экспрессии генов в опухолях рано умерших больных. В частности, наблюдается координированная экспрессия генов рецепторов *VEGFR1*, *VEGFR2* и *PDGFR β* , которая отсутствует у долгоживущих пациентов. Что касается гена лиганда *VEGFA*, уровень экспрессии которого ассоциирован с продолжительностью жизни, то в опухолях рано умерших больных этот ген экспрессируется координированно с геном рецептора *PDGFR β* , в то время как среди долгоживущих — с *VEGFR1*. Следовательно, в опухолях больных ПКР имеются существенные различия в координации действия генов на уровне транскрипции.

Поиск ассоциации полиморфных локусов генов *CCR5*, *CXCL12*, *CCL2* с риском развития рака мочевого пузыря

Л.З. Ахмадишина¹, А.А. Измайлов², Р.В. Плотницкий³,
С.М. Измайлова², Т.В. Викторова^{1,2}

¹Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук;

²ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа;

³ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы», Уфа

Хемокины не только индуцируют хемотаксис и воспалительные и иммунные реакции, но и вносят свой вклад в прогрессию опухоли: так, хемокины, секретируемые солидной опухолью либо метастатическими очагами, могут вести себя подобно ростовым факторам и усиливать распространение метастазов и ангиогенез (Aldinucci, Colombatti, 2014). Предполагается, что хемокиновый рецептор *CCR5* принимает участие в опухолевой прогрессии путем контроля противоопухолевого иммунного ответа (de Oliveira et al., 2014). Известен полиморфизм гена *CCR5*, связанный с мутацией в результате делеции 32 пар нуклеотидов (п.н.) в кодирующей области гена, приводящей к сдвигу рамки считывания и синтезу укороченного и функционально неактивного варианта рецептора. В нашем исследовании показана ассоциация риска развития рака мочевого пузыря (РМП) с сочетанием генотипов ID + DD (модель доминирования; отношение шансов (ОШ) 1,58; 95 % доверительный интервал (ДИ) 1,01–2,47; $p = 0,046$). Анализ выборок с учетом клинического течения выявил ассоциацию с неинвазивным РМП в доминантной модели (ОШ 1,97; 95 % ДИ 1,1–3,37; $p = 0,015$). Имеются литературные данные о том, что при раке толстой кишки экспрессия SDF-1 (*CXCL12*) ассоциирована с метастазированием опухоли и неблагоприятным прогнозом течения болезни (Федянин и соавт., 2013). В нашем исследовании локуса rs1801157 гена *CXCL12* было показано, что присутствие генотипа AA является протективным фактором при развитии РМП (рецессивная модель AA против AG + GG; ОШ 0,46; 95 % ДИ 0,22–0,97; $p = 0,035$). Отдельный анализ неинвазивного и инвазивного РМП выявил протективную ассоциацию с дозой аллеля A в аддитивной модели при неинвазивной форме опухоли (ОШ 0,60; 95 % ДИ 0,41–0,89; $p = 0,0092$). Имеются данные о том, что *CCL2* обладает ангиогенным эффектом в опухоли (Яшин, Медяник, 2014). Анализ полиморфизма –2518A>G гена *CCL2* в исследуемых выборках показал, что генотип GG встречался чаще в выборке практически здоровых индивидов — 20,9 % по сравнению с группой больных РМП — 8,5 %, различия достигли статистической значимости в рецессивной модели GG против

AG + AA (ОШ 0,35; 95 % ДИ 0,19–0,66; $p = 0,0005$). Причем ассоциация с генотипом GG в рецессивной модели сохранилась как для инвазивного (ОШ 0,42; 95 % ДИ 0,20–0,91; $p = 0,019$), так и для неинвазивного РМП (ОШ 0,30; 95 % ДИ 0,12–0,74; $p = 0,0033$). Таким образом, показана значимость изученных полиморфных локусов rs333 гена *CCR* и rs1801157 гена *CXCL12* в развитии мышечно-неинвазивного РМП. Тогда как локус rs1024611 гена *CCL2* ассоциировал и с инвазивной, и с неинвазивной формами РМП.

Динамика иммунофенотипа от первичной опухоли к локальному рецидиву у больных раком молочной железы

И.Г. Гатауллин, М.О. Дружков, О.Б. Дружков

ГБОУ ДПО «Казанская государственная медицинская академия» Минздрава России;

ГАНЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер» Минздрава Республики Татарстан, Казань

В связи с увеличением числа органосохраняющих операций при раке молочной железы (РМЖ) актуальной является не только проблема выбора объема оперативного вмешательства по поводу местных рецидивов, но и дальнейшей лучевой и лекарственной терапии. **Цель исследования** — сравнительный анализ фенотипов первичной опухоли и локального рецидива РМЖ.

Материалы и методы. Проанализированы истории болезни 5808 пациентов, получавших комбинированное лечение по поводу РМЖ в РКОНД МЗ РТ за период с 2000 по 2011 г., из них 4891 — после радикальной мастэктомии и 917 — после органосохраняющей операции на молочной железе. Локальные рецидивы выявлены у 108 больных, что составляет 1,85 % от их общего количества. После радикальной мастэктомии локальный рецидив возник в 1,2 % случаев, после органосохраняющей операции — в 4,9 %. Все удаленные локальные рецидивы подвергались гистологическому и иммуногистохимическому исследованию с использованием моноклональных антител к эстрогеновым и прогестероновым рецепторам, белку онкогена *HER-2/neu*. Полученные результаты сравнивали с соответствующими показателями первичных опухолей у данных пациентов.

Результаты. При сравнении основных иммуногистохимических показателей первичной опухоли и локального рецидива фенотип отличался в 57,69 % случаев. Изменениям не подвергались только опухоли HER-2-типа. Изменение от гормононегативных к гормонопозитивным опухолям отмечено в 46,7 % наблюдений, а от гормонопозитивных к гормононегативным — в 40 % случаев. У пациентов с РМЖ HER-2-типа фенотип рецидивной опухоли не менялся. При возникновении локального рецидива число больных

с опухолями HER-2-типа увеличилось с 11 до 23 %. У пациентов с опухолями люминального А-типа фенотип рецидивной опухоли менялся в 13,3 % случаев, люминального В-типа — в 60 %. Базальный тип первичной опухоли изменился при рецидиве в 33,3 % случаев.

Заключение. Таким образом, обосновано положение об изменении фенотипа РМЖ при возникновении локального рецидива. В связи с изменением фенотипа рецидивной опухоли должны изменяться и принципы лекарственного лечения локального рецидива.

Иммуногистохимический полиморфизм первичного и метастатического рака молочной железы

И.Г. Гатауллин, А.И. Хасанова

ГБОУ ДПО КазГМА Минздрава России;

ГАНЗ РКОНД Минздрава Республики Татарстан, Казань

Цель исследования — сравнительный анализ фенотипов первичной и вторичной (метастатической) опухолей молочной железы.

Материалы и методы. Иммуногистохимические исследования проводили с помощью набора моноклональных антител к эстрогеновым и прогестероновым рецепторам, белку онкогена *HER-2/neu*. Фенотипирование первичной опухоли выполнено у 400 больных раком молочной железы на основании определения стероидных рецепторов эстрогенов и прогестерона, а также экспрессии гена *HER-2/neu*.

Результаты. Реакция на рецепторы эстрогенов оценивалась как позитивная (1 балл и более) и негативная (0 баллов). У 20 больных с наличием отдаленных метастазов проведено фенотипирование как первичной, так и вторичной (метастатической) опухолей на гормональные рецепторы и статус *HER-2/neu*. Отдаленные метастазы: у 2 пациентов — в головной мозг, у 10 — в легкие, у 7 — в печень и у 1 — кожная диссеминация. Все метастазы морфологически и фенотипически верифицированы. Только в 12 % случаев отмечалось полное совпадение фенотипа первичной и метастатической опухолей. В 18 % случаев фенотип первичной опухоли не совпадал с вторичной по экспрессии гена *HER-2/neu*. В 19,4 % отмечалось несоответствие по экспрессии эстрогеновых рецепторов и в 31 % — по рецепторам прогестерона.

Заключение. Учитывая выявленный фенотипический полиморфизм первичной и вторичной опухолей молочной железы, метастатический рак молочной железы целесообразно лечить после оценки фенотипа метастатической опухоли.

Клиническо-морфологическая оценка мутации гена *KRAS* у пациентов с колоректальным раком

И.Г. Гатауллин, Р.К. Шакиров,
М.Г. Гордеев, Б.И. Гатауллин

ГБОУ ДПО КазГМА Минздрава России;
ГАОУ РК ОД Минздрава Республики Татарстан, Казань

Одной из важнейших соматических мутаций, обнаруженных в опухолях толстой кишки, является мутация в гене *KRAS*, выявляемая с частотой 30–50 %. Мутация в этом гене может стать новым фактором прогноза в рамках даже одной и той же стадии заболевания.

Цель исследования — выявление частоты мутации в гене *KRAS* у больных колоректальным раком в Республике Татарстан и оценка влияния мутации на течение и прогноз заболевания.

Материалы и методы. В исследование включены 120 больных колоректальным раком, получивших комбинированное лечение в ГАОУ РК ОД МЗ РТ. Пациентам был проведен генетический анализ на наличие мутации в гене *KRAS* на материале, полученном в результате оперативного вмешательства.

Результаты. У 35 из 120 пациентов выявлена мутация в гене *KRAS*, у 85 имелся «дикий» тип гена *KRAS* (частота мутаций составила 26,7 %). При этом 25 мутаций обнаружено в 12-м и 13-м кодонах, 7 мутаций в 61-м кодоне и 3 — в 146-м кодоне. Результаты исследования показали, что у русского населения мутантный тип гена *KRAS* выявляется чаще (38,9 %), чем у татарского населения (21,2 %; $p = 0,045$). Мутация в гене *KRAS* чаще встречалась у женщин, чем у мужчин (37,7 и 20,3 % соответственно; $p = 0,045$). Опухоли толстой кишки с мутантным геном *KRAS* более склонны к лимфогенному метастазированию (54,2 %), чем опухоли с «диким» типом (45,8 %; $p = 0,004$), что косвенно свидетельствует о более агрессивном течении опухолевого процесса при мутантном типе гена. Больные с мутантным типом гена чаще имеют отдаленные синхронные метастазы (63,6 %), чем больные с «диким» типом (36,4 %; $p = 0,0001$). Одногодичная выживаемость пациентов с «диким» типом гена *KRAS* составила 96,5 %, с мутантным типом гена — 88,6 % ($p = 0,0012$).

Заключение. Таким образом, опухоли с мутантным типом гена *KRAS* обладают агрессивным течением и высоким потенциалом к метастазированию. Мутация в данном гене является независимым значимым прогностическим признаком.

Роль микроРНК в развитии почечно-клеточного рака

И.Р. Гилязова¹, Е.А. Климентова¹, А.А. Измаилов²,
И.М. Султанов², В.Н. Павлов², Э.К. Хуснутдинова¹

¹Институт биохимии и генетики
Уфимского научного центра РАН;
²ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», Уфа;

В целях анализа роли микроРНК в развитии почечно-клеточного рака (ПКР) проведена оценка экспрессии 758 микроРНК в 16 парных образцах опухолей ПКР, а также исследование 30 полиморфных вариантов в 13 генах биогенеза микроРНК у 231 пациента с ПКР (106 русских, 86 татар, 39 башкир) и 1042 здоровых лиц (443 русских, 457 татар, 142 башкир) с использованием TaqMan-технологии и системы OpenArray QuantStudio 12K Flex Real-Time PCR. Для анализа данных по экспрессии микроРНК использовали ExpressionSuite Software. Применяли глобальную нормализацию данных. Ассоциацию однонуклеотидных полиморфизмов с болезнями анализировали при помощи пакета программ PLINK 1.07. Поправку на множественное тестирование вводили, используя метод FDR. В качестве статистически значимых принимали результаты при $FDR < 0,05$. Для метаанализа результатов по 3 выборкам — русских, татар и башкир — использовали программу WinPepi v. 11.32.

В результате анализа экспрессии микроРНК в опухолевой ткани почки обнаружена повышенная экспрессия miR-642 (fold change (FC) 4,177; $p = 0,021$) и miR-210 (FC 6,529; $p = 0,033$). miR-210 является наиболее часто активируемой микроРНК в нескольких раковых клеточных линиях в условиях гипоксии (Ho et al., 2010; McCormick et al., 2010). Она активируется, предположительно, из-за гипоксического характера опухолей, поскольку нарушенный ангиогенез не способен поддерживать адекватное кровоснабжение при развитии заболевания (Kulshreshtha et al., 2007). Повышенная экспрессия miR-642 при раке почки ранее не описана. В результате анализа генов биогенеза микроРНК наиболее высокий уровень ассоциации с развитием светлоклеточного рака почки у русских и татар выявлен по локусу rs1057035 в гене *DICER1* ($p = 3,026 \times 10^{-5}$ и $p = 0,03$ соответственно). Метаанализ результатов исследования полиморфных локусов генов биогенеза микроРНК у русских, татар и башкир показал значимые различия между выборками больных ПКР и здоровых по полиморфному локусу rs1057035 гена *DICER1* ($P^2 = 0,0$ %; $p = 1,643 \times 10^{-9}$), показатель отношения шансов для rs1057035*С составляет 2,13 (95 % доверительный интервал (ДИ) 1,55–2,93), а для rs2292832*Т — 0,47 (95 % ДИ 0,34–0,65). Результаты анализа экспрессии микроРНК и полиморфных вариантов некоторых генов биогенеза микроРНК свидетельствуют о необходимости изучения микроРНК в развитии злокачественных новообразований почки.

Клональная эволюция опухоли молочной железы в процессе неоадьювантной химиотерапии и гематогенное метастазирование

М.К. Ибрагимова, М.М. Цыганов, Н.В. Литвяков

ФГБНУ «Томский НИИ онкологии»;

²ФГБОУ ВПО «Национальный исследовательский
Томский государственный университет»

Актуальность. Опухолевые клоны (ОК) могут характеризоваться различными генетическими нарушениями, образованными в процессе клональной эволюции. Дополнительные изменения в клональное разнообразие могут быть внесены при использовании химиотерапевтических средств, которые обладают мутагенным эффектом и могут приводить к возникновению генетических нарушений и новых ОК.

Целью данного исследования являлось изучение клональной эволюции опухоли молочной железы в процессе неоадьювантной химиотерапии (НХТ).

Материалы и методы. Исследовано 26 парных образцов биопсийного материала до лечения и операционного материала после проведения НХТ для каждого пациента. ДНК из исследуемого материала выделена при помощи набора QIAamp DNA mini Kit. Для изучения клональной эволюции мутантных ОК использовали микроматрицу CytoScan HD Array (Affymetrix, USA). Проводили сравнение количества цитобэндов с CNA (copy number aberration — амплификациями и делециями) у каждого больного до лечения и после НХТ, анализировали число мутантных клонов в каждой опухоли и их изменение в процессе НХТ.

Результаты. Установлено, что в процессе НХТ у 50 % (13 из 26) больных уменьшалось количество мутантных клонов (вплоть до полной элиминации — 1 случай), в 19 % случаев химиотерапия не оказывала никакого влияния на количество мутантных ОК и частоту хромосомных аномалий. У 31 % (8 из 26) больных наблюдались случаи появления в процессе НХТ новых мутантных клонов, при этом у всех 8 пациентов появлялись клоны, содержащие новые делеции различных участков генома, и у 6 пациентов отмечалось появление клонов, содержащих амплификации. У 83 % (5 из 6) этих пациентов наблюдались отдаленные метастазы, у всех остальных больных с элиминацией ОК, отсутствием действия НХТ на клоны или с появлением делеционных клонов не было гематогенных метастазов в 5-летний период наблюдения (метод Каплана—Майера; $p = 0,00001$; log-rank test).

Заключение. Установлено, что селекция или новообразование ОК может происходить в результате воздействия на опухоль НХТ. Метастазирование опухоли молочной железы связано с появлением новых ОК

с амплификациями. Появление новых амплификационных клонов в процессе НХТ является неблагоприятным прогностическим фактором РМЖ.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-03091А и выполнена в рамках программы повышения конкурентоспособности НИТГУ.

Поиск химерных генов в опухолевых клетках при лейкозах у детей с помощью высокопроизводительного секвенирования

А.Ю. Иконникова¹, Г.С. Краснов¹, А.В. Снежкина¹,
Ю.И. Амму², А.В. Кудрявцева¹, Т.В. Наседкина^{1,2}

¹ФГБУН «ИМБ им. В.А. Энгельгардта РАН», Москва;

²ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздрава России,
Москва

Для лейкозов очень характерны структурные перестройки генома с образованием экспрессирующихся химерных генов, идентификация которых играет важную роль для уточнения диагноза, определения прогноза течения заболевания, выбора терапии и дальнейшего мониторинга минимальной остаточной болезни. Современные методы молекулярной диагностики, как правило, направлены на определение уже известных химерных генов. Для поиска новых химерных генов в опухолевых клетках больных лейкозом эффективным подходом является высокопроизводительное секвенирование транскриптома.

Проведено исследование транскриптомов клеток костного мозга 6 пациентов с острым миелобластным лейкозом (ОМЛ) и 1 больного с миелодиспластическим синдромом (МДС). Образцы подготовлены в рамках исследования «Генетическая диагностика острого миелобластного лейкоза у детей в России», проводимого ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Высокопроизводительное секвенирование транскриптомов осуществляли по технологии SOLEXA компании Illumina. В образцах пациентов были выявлены редкие варианты химерных транскриптов, в том числе в 1 случае ОМЛ М4 выявлены 2 химерных транскрипта *ETV6-MECOM* t(3;12) и *MN1-ETV6* t(12;22). В другом случае у пациента с ОМЛ обнаружен химерный транскрипт *MLL-SEPT6* с 2 вариантами слияния с участием 10-го и 11-го экзонов гена *MLL* и 2-го экзона гена *SEPT6*. Для каждого химерного транскрипта были синтезированы специфичные праймеры для обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции, наработаны продукты и проведена верификация результатов секвенированием по Сэнгеру.

Работа выполнена при поддержке Федеральной целевой программы Минобрнауки России (соглашение № 14.604.21.0117, RFMEFI60414X0117).

Роль полиморфизма p.E429A (rs1801131) гена *MTNFR* в увеличении риска развития спорадического рака молочной железы

В.Н. Кипень

Лаборатория молекулярных маркеров экологического воздействия УО «Международный государственный экологический университет им. А.Д. Сахарова»
Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь

Введение. Метаболизм фолатов — важное звено первичного метаболизма клетки. Он является поставщиком одноуглеродных фрагментов для таких жизненно важных клеточных процессов, как регенерация метионина, биосинтез пуриновых нуклеотидов и превращение уридинмонофосфата в тимидилат, метилирование ДНК и РНК и др. Нарушения метаболизма фолатов влияют на стабильность ДНК — данные процессы лежат в основе канцерогенеза. Нами была предпринята попытка оценить роль полиморфизма p.E429A (rs1801131) гена *MTNFR* в увеличении риска развития рака молочной железы (РМЖ) среди пациентов Республики Беларусь.

Материалы и методы. В исследование были включены 169 больных со спорадической формой РМЖ. Критериями отбора пациентов для исследования были: 1) отсутствие основных патогенетически значимых мутаций в генах *BRCA1* (с.5238insC, с.185delAG, с.300T>G, с.4153delA), *BRCA2* (с.6174delT), *TP53* (p.R273C, p.248W, p.R175H, p.R282W, p.R337H), *CHEK2* (с.1100delC, с.IVS2+1G>A) и *NBS1* (с.657del5); 2) отсутствие в личном анамнезе случаев билатеральных (как синхронных, так и метасинхронных) форм РМЖ; 3) отсутствие ранней манифестации. Медиана возраста на момент возникновения опухоли составила 45 лет (25-я перцентиль — 40,2 года; 75-я перцентиль — 48,2 года; возрастной интервал 29,1—54,1 года). В группу сравнения вошли 185 условно здоровых пациентов без онкологической патологии в анамнезе на момент забора крови. Группа сравнения соответствовала по возрасту и этническому составу выборке больных РМЖ. Все участники подписали информированное согласие на проведение молекулярно-генетических исследований. Образцы ДНК выделяли с помощью метода водно-метанольной экстракции по протоколу Johanson с модификациями. Анализ полиморфизма проводили с помощью ПДРФ-метода (рестриктаза MboII, NEB, USA). При сравнении результатов анализа генетического полиморфизма в группах использовали критерий Фишера или критерий χ^2 . Анализ ассоциации генотипов с риском развития заболевания проводили с использованием базового аллельного теста и расчета показателя отношения шансов (ОШ) для минорной аллели каждого анализируемого локуса (с расчетом 95 % доверительного интервала (ДИ)).

Результаты. Для однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) p.E429A найдены статистически значимые различия в исследуемых группах ($p = 0,04$): генотип AA чаще встречается среди пациентов с РМЖ, чем в группе сравнения, — 49,7 % (84 из 169) и 36,8 % (68 из 185) соответственно. Основываясь на результатах сравнения частот распространенности генотипов по ОНП p.429A в группах, для генотипов/аллелей рассчитывали значения ОШ. К протективным генотипам (снижающим риск развития заболевания) относятся CC/AC (ОШ 0,59; 95 % ДИ 0,38—0,90; $p = 0,01$). Патогенетическим генотипом (увеличивающим риск развития заболевания) является AA (ОШ 1,70; 95 % ДИ 1,11—2,60; $p = 0,01$).

Заключение. Полиморфизм p.E429A (rs1801131) гена *MTNFR* может быть отнесен к ОНП, модифицирующим риск развития спорадических форм РМЖ.

Анализ мутаций и полиморфизмов расширенной панели генов при раке желудка

К.И. Кириллова^{1,2}, И.И. Быков³, А.С. Танас^{1,2},
М.В. Немцова^{1,4}, В.В. Стрельников^{1,2}

¹ФГБНУ МГНЦ, Москва;

²ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова»
Минздрава России, Москва;

³ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова»
Минздрава России;

⁴ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России, Москва

В структуре онкологической заболеваемости в России рак желудка (РЖ) занимает 2-е место после рака легкого у мужчин и рака молочной железы у женщин. **Цель работы** — охарактеризовать спектр мутаций и полиморфизмов генов, вовлеченных в канцерогенез, при РЖ.

Материалы и методы. Материал опухоли получен от 50 больных РЖ в возрасте 35—59 лет: 28 образцов с диффузным и 22 образца с интестинальным типом РЖ. Поиск мутаций и полиморфизмов в 51 гене, вовлеченном в канцерогенез, проводили высокопроизводительным параллельным секвенированием ДНК (IonTorrent PGM).

Результаты. В исследуемой выборке мутации и полиморфизмы обнаружены в 22 генах. Соматические мутации в гене *TP53* (p.R116W, p.E298X, p.R26H, p.R248Q, p.V41L, p.G113D, p.A86fs, p.H179R, p.I100T, p.R273H) выявлены у 20 % пациентов (14 % — в образцах с интестинальным и 6 % — с диффузным типом РЖ); в гене *CDH1* (с.-71C>G, p.K182N, p.T303P, p.R38G, с.1320+2T>G) — у 10 % (8 % — с диффузным и 2 % — с интестинальным типом РЖ); в гене *PIK3CA* (p.K111E, p.E545K, p.H1047R) — у 6 % (4 % — с интестинальным и 2 % — с диффузным типом РЖ); в гене *STK11* (p.289K, с.-311C>T, с.-127T>C, p.S283fs) — у 8 %

(4 % — с интестинальным и 4 % — с диффузным типом РЖ); в гене *SMAD* мутации (p.V158A, p.R445X) обнаружены у 4 % пациентов с диффузным типом РЖ. В других генах, вовлеченных в канцерогенез, мутации выявлялись в единичных случаях: *ATM* (p.S1691R), *CDKN2A* (p.R103W), *EGFR* (p.V292M), *FBXW7* (p.R387C), *FGFR3* (p.F348L), *KRAS* (p.G12D), *MET* (p.N375S), *NOTCH* (с.5019-50G>A), *PTEN* (p.L265fs), *RBI* (p.H686N) и *SMO* (p.W206X). Частые полиморфизмы обнаружены в генах: *KDR* (p.Q472H) — у 52 %, *KIT* (p.M541L) — у 10 %, *KIT* (p.M373L) — у 6 % и *MET* (p.S178S) — у 6 % пациентов.

Известно, что к развитию наследственного диффузного РЖ приводят врожденные мутации в гене *CDH1*. Нами выявлены новые мутации в *CDH1* (с.-71C>G, p.K182N, p.T303P, p.S838G, с. 1320+2T>G). Кроме того, у 3 пациентов обнаружены врожденные мутации в генах, вовлеченных в канцерогенез: *MET* (p.N375S), *RBI* (p.H686N) и *EGFR* (p.V292M).

Заключение. Выявление у лиц без онкологической патологии мутаций и полиморфизмов в генах, ассоциированных с канцерогенезом, может переводить этих пациентов в группу повышенного риска развития заболевания. Наша работа поможет усовершенствовать методы диагностики, что, в свою очередь, послужит профилактикой развития РЖ.

Минимальная остаточная болезнь у детей с лимфомой/лейкозом Беркитта как фактор прогноза развития рецидива

В.А. Лавриненко, А.С. Федорова

ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии»
Минздрава Республики Беларусь, Минск

Введение. При лимфоме/лейкозе Беркитта приблизительно в 75 % случаев выявляется транслокация t(8;14)(q24;q32) и специфическая перестройка *MYC-IgH*, которая может служить мишенью для оценки минимальной остаточной болезни (МОБ). В некоторых исследованиях показано неблагоприятное прогностическое значение наличия МОБ при лимфоме/лейкозе Беркитта (Mussolin L., 2003; 2011). **Цель работы** — оценить прогностическое значение МОБ у детей с лимфомой/лейкозом Беркитта.

Материалы и методы. Обследованы 12 пациентов: 7 с лимфомой Беркитта высокого риска (4 — с III стадией, 3 — с IV стадией) и 5 с лейкозом Беркитта. Все больные получили лечение по протоколу В-НХЛ 2004/2010М, медиана наблюдения для выживших пациентов — 3,3 (1,3–6,1) года. Наличие перестройки *MYC-IgH* определяли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) длинных фрагментов, участок

слияния *MYC-IgH* секвенировали и подбирали праймеры для каждого больного. Уровень МОБ определяли количественно методом ПЦР в реальном времени с использованием пациент-специфических праймеров (ПС-ПЦР) в костном мозге (КМ) и/или периферической крови (ПК) до начала лечения, после профазы и перед последующими блоками химиотерапии (чувствительность метода 10^{-5} – 10^{-6}).

Результаты. У всех 5 пациентов с лейкозом Беркитта без морфологического поражения КМ (2 — с III стадией, 3 — с IV стадией) до лечения выявлялось наличие минимальной диссеминированной болезни в КМ и/или ПК с помощью ПС-ПЦР. Наличие МОБ после профазы отмечено у 6 (66,6 %) из 9 обследованных пациентов, перед 2-м блоком химиотерапии — у 2 (18,2 %) из 11. Таким образом, 10 (83 %) пациентов стали МОБ-негативными после 1-го блока химиотерапии. Двое (17 %) пациентов (1 — с лимфомой Беркитта III стадии и 1 — с лейкозом Беркитта) оставались МОБ-позитивными на протяжении всего лечения, у обоих, и только у них, в дальнейшем развился рецидив ($p = 0,015$).

Выводы. Наличие МОБ перед 2-м блоком химиотерапии — неблагоприятный фактор в плане высокого риска развития рецидива у детей с лейкозом/лимфомой Беркитта. ПС-ПЦР является высокочувствительным методом для количественного определения МОБ.

Полиморфизмы регуляторной области гена *TNF* и биологические подтипы рака молочной железы

Т.Ф. Маливанова, Е.В. Алферова, Н.Н. Мазуренко

НИИ канцерогенеза ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, Москва

Введение. Фактор некроза опухолей (tumor necrosis factor, TNF) — это центральный медиатор иммунного ответа, способный также индуцировать (в зависимости от физиологического контекста) как апоптоз, так и пролиферацию опухолевых клеток. Ген *TNF* имеет ряд однонуклеотидных замен, из которых наиболее известны полиморфизмы –238(G/A)TNF и –308(G/A)TNF, ассоциированные соответственно со снижением и повышением продукции цитокина в экспериментах *in vitro* и в клинических исследованиях. Ранее нами выявлена зависимость общей выживаемости больных раком молочной железы (РМЖ) с положительными по рецепторам эстрогенов опухолями от этих полиморфизмов. В связи с современной концепцией гетерогенности РМЖ представляется актуальным изучение влияния полиморфизмов гена *TNF* на биологические подтипы РМЖ.

Материалы и методы. Исследовали геномную ДНК 165 первичных больных РМЖ и 82 больных РМЖ, получавших химиотерапию. Для определения полимор-

физмов —308(G/A)TNF и —238(G/A)TNF использовали методы сайт-специфической полимеразной цепной реакции (ПЦР) и ПЦР-ПДРФ. В статистическом анализе использовали критерии Фишера, χ^2 и log-rank test.

Результаты. Для первичных больных РМЖ впервые выявлена ассоциация аллеля —238(A)TNF с индексом пролиферации Ki-67, причем при HER-2-отрицательных опухолях низкий индекс пролиферации имели все пациентки с аллелем —238(A)TNF и только 45,6 % — с другими генотипами ($p < 0,002$). При анализе группы больных РМЖ, получавших химиотерапию, обнаружено, что больные с первично-метастатическим РМЖ достоверно чаще имеют аллели —238(A)TNF и —308(A)TNF, чем пациентки без отдаленных метастазов ($p = 0,03$). Сравнительное изучение биологических подтипов РМЖ показало, что в группе больных с люминальным В-подтипом РМЖ без отдаленных метастазов меньшую медиану безрецидивной выживаемости имели носители аллелей —238(A)TNF и —308(A)TNF (18,5 и 27 мес соответственно) по сравнению с распространенным GG-генотипом (76 мес; $p = 0,02$).

Заключение. В совокупности с нашими ранее полученными данными результаты настоящего исследования свидетельствуют о способности полиморфизмов гена *TNF* оказывать свое действие в рамках определенных биологических подтипов РМЖ.

Эпигенетические маркеры для жидкой биопсии: достоинства, недостатки, рациональный дизайн диагностических систем

Е.С. Морозкин^{1,2}, Е.Ю. Рыкова¹, А.А. Бондарь¹, Т.Э. Скворцова¹, И.А. Запороженко¹, А.М. Курильщикова¹, О.Ю. Аникеева², Н.П. Краснова², Е.С. Половников², О.А. Пашковская², Е.А. Покушалов², А.А. Пономарева³, Н.В. Чердынцева³, П.П. Лактионов^{1,2}

¹ИХБФМ СО РАН, Новосибирск;

²ФГБУ «Новосибирский НИИ патологии кровообращения им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России;

³ФГБНУ «Томский НИИ онкологии»

Одним из способов диагностики наличия/состояния опухолевого процесса является анализ онкоассоциированных циркулирующих нуклеиновых кислот (циркННК) крови — его сейчас принято называть жидкой биопсией. Однако выявление опухоль-специфических нуклеиновых кислот осложняется их низким содержанием в крови, фрагментацией циркННК и ДНК, наличием значительного количества циркННК из нормальных клеток, тканеспецифическими и возрастными особенностями нуклеиновых кислот нормальных тканей. При этом эпигенетические маркеры опухолевых клеток, такие как aberrантно-метилованные ДНК (амДНК) и микроРНК, циркулирующие в крови,

обладают рядом очевидных преимуществ. Эти маркеры часто встречаются в клетках опухолей, появляются в клетках и в крови уже на ранних стадиях опухолевого процесса, стабильны в циркулирующей крови; проработана эффективная аналитическая процедура их определения, в том числе и в избытке молекул, генерируемых нормальными тканями. Несмотря на вышеперечисленные преимущества эпигенетических маркеров, на европейском рынке представлена только 1 диагностическая система компании Epigenomics AG, направленная на выявление колоректального рака по циркулирующей амДНК крови. Для разработки диагностических систем мы использовали 2 подхода: 1) иррациональный — основанный на переборе известных маркеров, разработке требований включения/исключения образцов и аналитических систем с абсолютной чувствительностью и специфичностью и 2) рациональный, основанный на локус-специфическом секвенировании циркулирующей ДНК крови здоровых и больных на платформе MySeq или анализе потенциальных маркеров — 176 микроРНК на платформе Exiqon с последующим биоинформационным анализом данных, а также на разработке требований к аналитической и диагностической платформам.

С использованием иррационального подхода нами разработана диагностическая система для рака легкого, основанная на анализе циркулирующих ДНК крови и имеющая специфичность и чувствительность более 85 %. Методом массового параллельного секвенирования найдены потенциальные маркерные участки, построены биоинформационные модели и варианты аналитических систем, позволяющие со специфичностью более 95 % и чувствительностью более 88 % диагностировать рак предстательной железы. Анализ данных профилирования циркулирующих микроРНК выявил маркеры, позволяющие детектировать рак легкого с чувствительностью более 85 % и абсолютной специфичностью. Все системы находятся на стадии верификации.

Варианты генетического полиморфизма, влияющие на риск развития рака легкого

А.Ф. Мукерия¹, В.А. Драудин-Крыленко¹, М.В. Гаас², Д.Г. Заридзе¹

¹НИИ канцерогенеза ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

²ГБУЗ «Онкологический клинический диспансер № 1 Департамента здравоохранения г. Москвы»

Полногеномный анализ случаев рака легкого (РЛ) выявил локусы повышенного риска на длинном плече хромосомы 15 (15q25) и коротком плече хромосомы 5 (5p15). Связь с риском была наиболее выражена для 2 однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) —

rs1051730 и rs8034191. Риск развития РЛ наиболее высок у лиц, гомозиготных (С/С) по rs8034191. На идентифицированном участке хромосомы 15q25 расположены несколько генов, а именно гены ацетилхолиновых рецепторов никотина (*CHRNA2–4*), которые взаимодействуют с никотином и другими токсинами, содержащимися в табачном дыме. Вторым участком (5p15) содержит два ОНП высокого риска. У лиц, гетерозиготных и гомозиготных по этим ОНП, повышен риск развития РЛ. Однако величины отношения рисков ниже, чем для ОНП, расположенных на длинном плече хромосомы 15. Локус 5p15 содержит ген *hTERT*, который регулирует образование теломеразы и поддерживает сохранность теломера. Полученные результаты могут быть использованы для разработки маркеров для ранней диагностики и профилактики РЛ. В результате последующего полногеномного метаанализа, проведенного для изучения новых возможных генетических изменений, влияющих на риск РЛ, получены еще более убедительные подтверждения роли ранее уже идентифицированных локусов на хромосомах 5p15, 6p21 и 15q25 в этиологии РЛ. Более того, продемонстрированы специфические эффекты в зависимости от гистологического типа опухоли для локусов на хромосомах 5p15, 6p21 и 12p13, но не для 15q25. Был обнаружен неизвестный ранее локус на хромосоме 9p21, влияющий на риск плоскоклеточного рака. Полученные результаты еще раз подтверждают существование наследственной генетической предрасположенности к РЛ, а также различий в процессе легочного канцерогенеза в зависимости от гистологического типа опухоли.

Влияние последовательности ДНК на способность узкобороздочных лигандов ингибировать активность белка PARP-1 *in vitro*

Д.С. Набережнов¹, В.Ю. Глазунов^{1,2},
Е.А. Лесовая^{1,3}, А.В. Шубин^{1,4}, Г.А. Белицкий¹,
М.Г. Якубовская¹, К.И. Кирсанов¹

¹ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

²ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова»;

³ГБОУ ВПО «РязГМУ им. акад. И.П. Павлова»

Минздрава России;

⁴ФГБУН «Институт молекулярной генетики»
Российской академии наук, Москва

Актуальность. ДНК-связывающиеся соединения обладают широким спектром биологического действия. Считается, что их свойства в значительной мере определяются типом взаимодействия с ДНК и аффинностью к определенным структурным детерминантам, формируемым биополимером. В настоящее время большой интерес вызывают так называемые узкобороздочные лиганды (УБЛ), представляющие довольно

большой класс агентов различной химической природы, для которых общим свойством является способность формировать комплексы с ДНК по малой бороздке за счет водородных связей и ван-дер-ваальсовых взаимодействий без образования ковалентной связи.

Применительно к онкологической практике изучение УБЛ представляет как теоретический, так и практический интерес в связи с широким спектром их биологического действия, имеющего как про-, так и антиканцерогенную направленность.

Задачи. 1) Провести сравнительный анализ взаимодействия ряда УБЛ с ДНК, используя футпринтинг ДНКазой I; 2) провести сравнительный анализ способности ряда «классических» и новосинтезированных УБЛ ингибировать белок PARP-1 *in vitro*; 3) оценить зависимость активации белка PARP-1 от наличия АТ-богатого сайта, одноцепочечного разрыва и их взаимного расположения в гантелеобразном дуплексе ДНК; 4) изучить способность УБЛ ингибировать белок PARP-1, используя гантелеобразные дуплексы, содержащие одноцепочечный разрыв и сайт «узнавания» УБЛ при их различной взаимной локализации.

Результаты и выводы. Методом футпринтинга ДНКазой I мы показали, что в присутствии каждого из проанализированных УБЛ наблюдался специфический профиль расщепления ДНКазой I, причем общим свойством зон, не подвергшихся расщеплению, являлось наличие последовательностей АТ и АА. Эти данные свидетельствуют о сиквенс-специфичности взаимодействия УБЛ с ДНК. Увеличение аффинности УБЛ к АТ-богатым последовательностям наблюдалось в ряду DAPI < Pentamidine < Diminazene < Hoechst 33258 < Hoechst 33342. Наибольшей способностью ингибировать ДНК-зависимую активацию PARP-1 обладали DAPI, Diminazene и Hoechst 33258, а их концентрации полумаксимального ингибирования реакции (IC_{50}) составили 0,062; 0,133 и 13,2 мкМ соответственно. Введение АТ-богатого региона в последовательности гантелеобразного ДНК-дуплекса значительно увеличивало ингибирующую способность Diminazene.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-09216.

Деметилирование ДНК в лечении детей с острыми миелоидными лейкозами

В.С. Немировченко, Е.В. Флейшман,
О.И. Сокова, И.Н. Серебрякова, Б.В. Курдюков,
Ф.А. Махачева, А.В. Попа

НИИ детской онкологии и гематологии, НИИ канцерогенеза,
НИИ клинической онкологии ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, Москва

Выживаемость детей с острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ) остается низкой (55–67 %). Известно, что при лейкозах, как и при других злокачествен-

ных новообразованиях, происходят не только генетические, но и выраженные эпигенетические нарушения. В исследованиях НИИ ДОГ ОМЛ 2007 и НИИ ДОГ ОМЛ 2012 наряду с химиопрепаратами применялись деметилирующий ДНК децитабин (Дакоген®), а также ингибиторы деацетилазы — вальпроевая кислота (Депакин®) и полностью трансретиноевая кислота (АТРА, Весаноид®).

По данным протокола ОМЛ НИИ ДОГ 2007 ($n = 70$), в котором к химиотерапии были добавлены Депакин® и АТРА, достигнута 5-летняя безрецидивная выживаемость (БРВ) в $52,4 \pm 6,4$ % случаев, бессобытийная выживаемость (БСВ) — $50,7 \pm 6,2$ % и общая выживаемость (ОВ) — $52,8 \pm 6,1$ %. У пациентов стандартной группы риска ($n = 13$) БРВ составила $74,1 \pm 12,9$ %; ОВ — $75,0 \pm 12,5$ %; средней ($n = 22$) — $42,9 \pm 10,8$ и $50,1 \pm 11,3$ % соответственно; высокой ($n = 35$) — $45,7 \pm 8,9$ и $48,5 \pm 8,7$ % соответственно. Протокол не показал увеличения токсичности терапии при добавлении эпигенетических препаратов.

В протокол НИИ ДОГ ОМЛ 2012 был добавлен еще один эпигенетический препарат — децитабин. Лечение децитабином получили 18 больных ОМЛ. Средний возраст пациентов составил $5,7 \pm 1,3$ года. В группу стандартного риска был включен 1 больной (5,6 %), среднего — 4 (22,2 %) и высокого — 13 (72,2 %) детей. Пять (27,8 %) пациентов получали децитабин в режиме «окна» — до первого курса индукции. Существенного снижения уровня бластных клеток в пунктате костного мозга на 6-й день у них не наблюдалось ($64,4 \pm 28,9$ % исходно и $53,5 \pm 36,1$ % на 6-й день; $p = 0,9$). Тринадцать (72,2 %) больных получали децитабин после 1-го индукционного курса с 16-го по 20-й дни. Все пациенты были инициально отнесены к группе среднего (2 ребенка) и высокого риска (11 детей). Ремиссия достигнута у всех 13 пациентов после проведения 1-го индукционного курса. Высокодозная химиотерапия и трансплантация гемопоэтических стволовых клеток данным больным не проводились. Ни у одного из пациентов не развился рецидив (средний срок наблюдения $12,0 \pm 6,1$ мес).

Таким образом, включение препарата, обладающего непосредственным деметилирующим воздействием на ДНК опухолевой клетки, в период с 16-го по 20-й дни от начала 1-го курса индукции позволило достичь ремиссии у всех больных без увеличения органной токсичности. Кроме того, удалось избежать timing-режима химиотерапии в индукции ремиссии, что существенно сократило токсичность. При среднем сроке наблюдения 12 (6–36) мес рецидивов у пациентов, включенных в исследование, не отмечалось. Возможно, деметилирование ДНК в сочетании с химиотерапией позволит существенно увеличить выживаемость детей, больных ОМЛ.

МикроРНК в эпителиальной ткани лиц с предопухолевыми заболеваниями и карциномой гортани

Е.Г. Никитина, Д.Е. Кульбакин,
О.В. Черемисина, Н.В. Литвяков

ФГБНУ «Томский НИИ онкологии»

Цель исследования — анализ экспрессии микроРНК в патологически измененной ткани гортани пациентов с предопухолевыми состояниями и карциномами гортани.

Материалы и методы. Использовали парный операционный либо биопсийный материал (измененная и прилежащая нормальная ткань) от пациентов с диагнозом дисплазии 0–III степени (Д0 — III; $n = 25$) и плоскоклеточного рака гортани (РГ; первичный диагноз, $n = 46$). Диагноз верифицировали морфологически. Тотальную фракцию РНК выделяли набором реагентов miRvana™. Уровень экспрессии miR-18a, -21, -155, -200a, -200c, -205, -221 и -494 в ткани рассчитан согласно методу Pfaffl, в качестве гена-рефери выбрана miR-103. Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 8.0.

Результаты. Показана тенденция aberrантного повышения экспрессии онкогенных miR-21, -155, -200c и -205 в ряду патологических состояний от Д0 к ДIII (Д0 — I ($n = 15$) vs ДII–III ($n = 10$); $p = 0,019$; $p = 0,045$; $p = 0,020$ и $p = 0,038$ соответственно). У пациентов с РГ значимо гиперэкспрессированы miR-205, -155, -200c и -21 (15 vs 46; $p = 0,0002$; $p = 0,008$; $p = 0,009$ и $p = 0,013$ соответственно) в сравнении с группой без диспластических изменений. Интересно отметить, что показатели экспрессии в подгруппах лиц с ДII–III и РГ были схожими и статистически не различались, что позволяет судить о близости этих подгрупп на молекулярном уровне. В группе больных РГ в сравнении с группой пациентов с диспластическими изменениями количество случаев с гиперэкспрессией miR-205 в 2,98 раза выше, чем с гипоекспрессией (95 % доверительный интервал (ДИ) 1,41–16,26; $p = 0,007$). Это свидетельствует о том, что риск прогрессии заболевания возрастает при повышении экспрессии miR-205 (отношение шансов (ОШ) 4,79). Также показано, что частота случаев с повышенным уровнем экспрессии miR-155 в 2 и более раза в патологически измененной ткани наблюдается значимо чаще у больных РГ, чем у пациентов без диспластических изменений (ОШ 6,82; 95 % ДИ 1,68–27,66; $p = 0,004$), а риск прогрессии заболевания возрастает в 3,2 раза.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о том, что пациенты с предопухолевой патологией составляют гетерогенную группу по молекулярно-генетическим показателям, таким как паттерн экспрессии микроРНК. Выявлено, что miR-21, -155, -200c и -205, вероятно, принимают немаловажное участие в канце-

рогенезе опухолей гортани в силу сопряженности повышения их экспрессии в ряду патологического состояния «отсутствие дисплазии → дисплазия II степени → дисплазия III степени → РГ». Вычислено, что частота случаев с гиперэкспрессией miR-205 и miR-155 при РГ выше, чем при предопухолевых патологиях, что позволяет сделать предположение о перспективности использования данного показателя для оценки риска развития онкопатологии.

Одновременное подавление экспрессии онкогенов путем стабилизации G-квадруплексов в промоторных областях

А.М. Оглоблина¹, Я.А. Жуликов², А.В. Алексеевский²,
М.Г. Якубовская¹

¹НИИ канцерогенеза ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, Москва;

²ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова»
Минздрава России

Новым направлением молекулярной онкологии является изучение механизмов эпигенетической регуляции экспрессии генов неканоническими структурами ДНК, среди которых наиболее важным является стабилизация/дестабилизация G-квадруплексов (G4) — единственной неканонической формы нуклеиновых кислот, существование которой *in vivo* строго доказано. Промоторы онкогенов значительно обогащены G4-образующими последовательностями (G4-мотивами), в то время как гены-супрессоры опухолей обеднены данными мотивами.

При локализации G4-мотива в промоторной области гена уровень его экспрессии определяется закономерностями перехода В-ДНК в неканоническую форму. Химические соединения способны модулировать процесс функционально значимого перехода В-ДНК в G4. Возможности использования потенциальных противоопухолевых препаратов, способных стабилизировать G4 и таким образом подавлять экспрессию онкогенов, в настоящее время активно изучаются.

В целях обнаружения онкогенов, содержащих G4-мотив в промоторной области и подверженных данному типу регуляции, выполнен биоинформатический анализ генома. Работа проводилась методами компьютерного анализа баз данных генома человека (Human Genome GRCh39/hg39). В результате исследования выявлены гены, содержащие QFS на расстоянии до 500 пар нуклеотидов от сайта старта трансляции.

Обнаружено более 50 онкогенов, содержащих G4-мотивы в промоторах, ранее не описанных в литературе. Пять из них (*CSK*, *REL*, *CERK*, *RELA* и *PBX*) были протестированы на наличие G4-зависимой регуляции экспрессии. Для этого клетки линии MCF-7 обраба-

тывали классическим стабилизатором G4 — лигандом TmPyP4 в концентрациях 50, 100 и 300 мкМ. Концентрации подбирали исходя из IC₅₀, определяемой МТТ-тестом, которая составила 450 мкМ. Методом количественной полимеразной цепной реакции обнаружено подавление экспрессии всех перечисленных генов, нормализация образцов проводилась по отношению к количеству мРНК генов домашнего хозяйства *Rpl27*. Наблюдали дозозависимый эффект подавления транскрипции: при максимальной концентрации TmPyP4 (300 мкМ) экспрессия *CSK* снизилась в 2 раза, *REL* — в 5 раз, *CERK* — в 5,6 раза, *RELA* — в 5,2 раза и *PBX* — в 5,6 раза. Таким образом, данные гены могут служить мишенями при разработке противоопухолевых препаратов — стабилизаторов G4.

Анализ характера изменений уровня циркулирующих микроРНК в ответ на противоопухолевое лечение

А.А. Пономарева^{1,2}, Е.С. Морозкин^{3,4}, Е.Ю. Рыкова³,
И.А. Запорожченко^{3,4}, Т.Э. Скворцова³, А.Ю. Добродеев¹,
А.А. Завьялов¹, С.А. Тузиков¹, В.В. Власов³,
Н.В. Чердынцева^{1,5}, П.П. Лактионов^{3,4}

¹ФГБНУ «Томский НИИ онкологии»;

²ИХБФМ СО РАН, Новосибирск;

³ГБОУ ВПО «Национальный исследовательский
Томский политехнический университет»;

⁴ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский
институт патологии кровообращения
им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России;

⁵ГБОУ ВПО «Национальный исследовательский Томский
государственный университет»

Введение. Показано, что уровень экспрессии опухолю-ассоциированных микроРНК существенно изменяется в плазме/сыворотке крови больных раком легкого (РЛ) по сравнению со здоровыми донорами. **Целью исследования** явилась оценка значимости изменений уровня 5 выбранных микроРНК плазмы крови как маркеров ответа на противоопухолевую терапию и прогноза выживаемости у больных РЛ.

Материалы и методы. Анализ экспрессии miR-19b, -12b, -25, -205, -125b проводился с помощью количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией при использовании контрольной miR-16 на 23 образцах плазмы крови от больных РЛ. Образцы плазмы крови получены от пациентов до лечения, на 30-е сутки после проведения 2 курсов химиотерапии и на 15-е сутки после резекции опухоли.

Результаты. Анализ методом ANOVA показал, что изменения уровня экспрессии miR-19b в плазме крови пациентов на этапах динамического наблюдения при проведении противоопухолевой терапии характеризуются значимым квадратичным трендом ($p = 0,03$). Уровень экспрессии miR-125b значимо повышается

и характеризуется линейным трендом ($p = 0,03$). Отношение miR-125b/19b значимо изменяется в образцах плазмы крови, собранных после химиотерапии и после операции, и при этом характеризуется линейным трендом ($p = 0,04$). В ходе анализа отдельных групп пациентов в зависимости от ответа на химиотерапию (с частичной регрессией и со стабилизацией или прогрессией) выявлены также разные тренды экспрессии miR-19b, -125b и miR-125b/19b между этими группами. Показана ассоциация изменений отношения miR-125b/19b с безрецидивной выживаемостью у больных РЛ ($p < 0,1$). Таким образом, динамические изменения трендов уровня экспрессии miR-19b, miR-125b и miR-125b/19b свидетельствуют о потенциальной возможности использования данных показателей как маркеров предсказания ответа на противоопухолевое лечение. Представляются перспективными дальнейшие исследования в целях оценки прямой связи уровня экспрессии микроРНК в плазме крови с ответом на терапию и выживаемостью у больных РЛ.

Работа поддержана РФФИ (гранты № 14-04-01881 и № 15-34-51142).

Определение мутаций киназного домена *BCR-ABL* у больных хроническим миелолейкозом, резистентных к терапии ингибиторами тирозинкиназ: данные наблюдений за 2013–2015 гг.

В.В. Тихонова¹, Л.А. Кесаева¹, А.А. Крутов²,
Е.Н. Мисюрин³, А.Г. Туркина⁴, Е.Ю. Челышева⁴,
Н.В. Новицкая⁵, Е.А. Османов¹, А.В. Мисюрин¹

¹ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

²ООО «ГеноТехнология», Москва;

³ФГБУ «Гематологический научный центр»

Минздрава России, Москва;

⁴ГБУЗ ГКБ № 52 ДЗМ;

⁵ГБУЗ «Городская клиническая больница им. С.П. Боткина»
Департамента здравоохранения г. Москвы

Введение. Основной причиной резистентности больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ) к терапии ингибиторами тирозинкиназ (ИТК) являются мутации, затрагивающие киназный домен химерного онкогена *BCR-ABL*. Определение мутационного статуса этого участка является обязательным видом анализа для больных ХМЛ с недостаточным ответом на терапию иматинибом, а также при переходе на терапию нилотинибом и дазатинибом. Анализ наиболее значимых точечных мутаций, определяющих резистентность к ИТК, с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени может способствовать выбору наиболее эффективной терапии больных ХМЛ.

Материалы и методы. Изучен спектр мутаций киназного домена *BCR-ABL* у 925 больных ХМЛ, резистентных к терапии ИТК, наблюдавшихся в период с 2013 по 2015 г. Мутационный анализ участка мРНК *BCR-ABL* проводился методом прямого секвенирования. Наличие наиболее значимых точечных мутаций выявлялось с помощью ПЦР с обратной транскрипцией, уровень экспрессии мРНК *BCR-ABL* с этими мутациями — методом ПЦР в реальном времени.

Результаты и обсуждение. Мутации гена *BCR-ABL* выявлены у 24 % больных ХМЛ, резистентных к терапии иматинибом. У 9,5 % пациентов выявлены двойные мутации, у 0,6 % — тройные; общее количество обнаруженных мутаций составило 198 (43 различных варианта). У 9 человек с течением времени обнаружено появление новой мутации или смена одной мутации на другую. Анализ соотношения доли мутаций за отдельные периоды времени (2006–2012, 2013, 2014, 2015 гг.) не выявил статистических различий. Спектр мутаций, резистентных к нилотинибу и дазатинибу, был следующим: T315I — 18,4 %; Y253H — 8,9 %; F317L — 8,9 %; F359V — 6,7 %; E255K — 3,9 %; Y253F — 2,8 %; E255V — 2,2 %. Распределение наиболее часто встречающихся мутаций, резистентных к иматинибу: M244V — 10,6 %; G250E — 8,9 %; H396R — 4,5 %. Значительная доля мутаций, приводящих к резистентности к дазатинибу и нилотинибу у больных ХМЛ, получавших терапию иматинибом, подчеркивает важность проведения мутационного анализа при смене терапии, а использование панелей для наиболее важных мутаций позволяет снизить затраты по сравнению с полным секвенированием киназного домена.

*Работа выполнена в рамках темы НИР № 0507-2014-0185 «Исследование мутаций гена *BCR-ABL* у больных хроническим миелолейкозом, резистентных к терапии ингибиторами тирозинкиназной активности».*

Выявление герминальных мутаций при злокачественных новообразованиях желудочно-кишечного тракта с помощью таргетного секвенирования

М.Г. Филиппова^{1,2}, И.С. Абрамов^{1,2}, А.В. Семьянихина¹,
Т.С. Дубровина¹, Т.В. Наседкина², Л.Н. Любченко¹

¹ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

²ФГБУН «ИМБ им. В.А. Энгельгардта РАН», Москва

Введение. Существует ряд наследственных заболеваний, при которых риск развития злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) значительно превышает общепопуляционный, в патогенезе которых лежат герминальные мутации в генах предрасположенности. Так, наследственный неполи-

позный колоректальный рак (синдром Линча) ассоциирован с мутациями в генах *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS1* и *PMS2*; семейный аденоматозный полипоз — с мутациями в гене *APC*, а МҮН-ассоциированный полипоз — с мутациями в гене *MUTYH*.

Материалы и методы. В целях оценки вклада герминальных мутаций и полиморфных вариантов в генах *APC*, *MLH1*, *PMS2*, *PMS1*, *MSH2*, *TP53*, *MSH6*, *CDH1*, *BMPRIA*, *CHEK2*, *EPCAM*, *MUTYH*, *PTEN*, *SMAD4*, *STK11* проведено молекулярно-генетическое исследование геномной ДНК 36 пациентов со злокачественными новообразованиями ЖКТ. Отягощенный семейный анамнез отмечался в 90 % случаев. Отбор целевой последовательности проводили с помощью технологии жидких чипов NimbleGen Sequence Capture. Библиотека зондов включала 2,1 млн олигонуклеотидов длиной 50–105 нуклеотидов, комплементарных кодирующим участкам исследуемых генов. Секвенирование проводили на платформе GS Junior (454/Roche).

Результаты. Выявлено 50 полиморфизмов и мутаций, включая описанные ранее патогенные варианты. Редкие варианты были представлены синонимичными заменами (p.Tyr214= в гене *MSH6*, p.Asn751= в гене *CDH1*), миссенс-мутациями (p.Gly256Asp в гене *MSH2*, p.Val22Met в гене *MUTYH*, p.Thr511Ala в гене *PMS2*, p.Ile157Thr в гене *CHEK2*). Также обнаружены нонсенс-мутации, приводящие к формированию преждевременного стоп-кодона (p.Gln816Ter, p.Arg406Ter, p.Leu744Ter в гене *MSH2*). Данные NGS были подтверждены секвенированием по Сэнгеру.

Выводы. Высокопроизводительное секвенирование является эффективным методом выявления герминальных мутаций и может быть применено в диагностике наследственных форм злокачественных новообразований ЖКТ.

Прогностическое значение локализации точек разрыва в гене *MLL* при острых лейкозах детей первого года жизни

Г.А. Цаур¹⁻³, К. Майер⁴, А.М. Кустанович⁵, А.М. Попов⁶,
Т.О. Ригер¹, Е.В. Флейшман⁷, О.И. Сокова⁷,
Ю.В. Ольшанская⁶, Е.А. Матвеева⁶, Е.В. Шориков¹,
Л.И. Савельев¹⁻³, Р. Маршалек⁴, Л.Г. Фечина¹

¹ГБУЗ «Областная детская клиническая больница № 1»,
Екатеринбург;

²ГАОУ СО «Институт медицинских клеточных технологий»,
Екатеринбург;

³ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский
университет» Минздрава России, Екатеринбург;

⁴Диагностический центр острых лейкозов,
Институт фармацевтической биологии,
Франкфуртский университет им. И.В. Гете,
Франкфурт-на-Майне, Германия;

⁵ГУ «РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии»
Минздрава Республики Беларусь, Минск;

⁶ФНКИ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, Москва;
⁷ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Цель. Оценить взаимосвязь между локализацией точек разрыва в геномной ДНК гена *MLL* и результатами терапии острых лейкозов (ОЛ) у детей первого года жизни.

Материалы и методы. Обследованы 87 детей в возрасте от 0 до 24 месяцев с перестройками гена *MLL*: у 63 из них был острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), у 22 — острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), у 2 — острый лейкоз смешанной линейности. Точка разрыва в геномной ДНК гена *MLL* и генов-партнеров была определена методом длинной инвертированной полимеразной цепной реакции.

Результаты. Наиболее частой точкой разрыва в ДНК гена *MLL* у пациентов с ОЛЛ являлся интрон 11 (31 из 63; 49 %), реже разрывы локализовались в интронах 10 (13 из 63; 21 %) и 9 (9 из 63; 14 %). У пациентов с ОМЛ самой частой точкой разрыва в геномной ДНК гена *MLL* являлся интрон 9 (10 из 22; 45 %), реже обнаруживались точки разрыва в интронах 10 (5 из 22; 23 %) и 11 (4 из 22; 18 %). При оценке прогностической значимости локализации точек разрыва в ДНК гена *MLL* у 46 детей первого года жизни с ОЛЛ, включенных в исследование MLL-Baby, было показано, что 5-летняя бессобытийная выживаемость у пациентов с точкой разрыва в интроне 11 ($n = 29$) была достоверно ниже, чем у пациентов с локализацией точек разрыва с интрона 7 по экзон 11 ($n = 17$; $0,16 \pm 0,07$ и $0,38 \pm 0,14$ соответственно; $p = 0,039$). Одновременно с этим кумулятивная вероятность развития рецидива была значительно выше в группе с точкой разрыва в интроне 11 ($0,74 \pm 0,09$ и $0,52 \pm 0,17$; $p = 0,045$). При проведении многовариантного регрессионного анализа по методу Кокса с включением в модель точки разрыва в интроне 11, возраста, иммунофенотипа, инициального лейкоцитоза, инициальной нейтролейкемии, типа перестройки гена *MLL*, абсолютного количества бластных клеток на 8-й день профаза и минимальной остаточной болезни (МОБ) в точке наблюдения 4 (ТН4) было показано, что единственным значимым фактором остается сохранение МОБ в ТН4 (отношение рисков 5,994; 95 % доверительный интервал 2,209–16,263; $p < 0,001$). Для пациентов с ОМЛ подобной взаимосвязи не выявлено.

Заключение. Локализация точки разрыва в интроне 11 гена *MLL* достоверно ухудшала прогноз детей первого года жизни с ОЛЛ при терапии по протоколу MLL-Baby. Однако данный прогностический фактор нивелировался в многофакторном анализе, где единственным значимым фактором оставалось сохранение МОБ в ТН4 протокола MLL-Baby.

Молекулярная диагностика и мишени таргетной терапии меланомы

Н.Н. Мазуренко, И.В. Цыганова, А.А. Лушникова

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Меланома подразделяется на несколько клинико-морфологических подтипов, которые различаются по типу активирующих генетических нарушений. Персонализированная терапия метастатической меланомы направлена на ингибирование сигнальных путей генов, активированных в результате соматических мутаций. **Цель исследования** — анализ мутаций генов *BRAF*, *NRAS*, *KIT*, *PDGFRA*, *GNAQ* и *GNA11* в образцах меланомы различной локализации для характеристики подтипов меланомы и определения чувствительности к препаратам таргетной терапии.

Материалы и методы. Исследовали ДНК, выделенную из парафиновых срезов первичных опухолей или метастазов меланомы от 281 пациента с меланомой кожи ($n = 202$), слизистых оболочек ($n = 24$) или глаза ($n = 55$). Мутации определяли методом полимеразной цепной реакции с последующим секвенированием.

Результаты. В 202 образцах меланомы кожи выявлены мутации *BRAF* (59 %), *NRAS* (15 %) и *KIT* (1 %). Мутации *BRAF* присутствовали в 69 % опухолей на закрытых для постоянного ультрафиолетового (УФ) облучения участках тела и значительно реже встречались на коже головы, шеи или верхних конечностей (42 %). Мутации *NRAS* и *KIT*, напротив, достоверно чаще выявлялись в опухолях на открытых для УФ-облучения участках кожи (25 и 7 % соответственно). Мутации *BRAF* представлены заменами V600E/K (96,5 %), чувствительными к ингибиторам *BRAF* вемурафенибу или дабрафенибу, тогда как меланомы с мутациями *BRAF* L597 (2,5 %) и K601 (1 %) чувствительны к ингибиторам MEK. Наибольшая частота мутаций *BRAF* отмечена у пациентов в возрасте до 30 лет. Особую группу составили 6 случаев акрально-лентигиозной меланомы кожи, в которых доминировали мутации *NRAS* (33 %).

В меланомах слизистых оболочек обнаружены мутации *KIT* (35 %), *BRAF* (17 %) и *NRAS* (13 %). Спектр мутаций варьировал в зависимости от локализации опухоли. В частности, мутации в экзоне 11 *KIT* выявлены в 50 % случаев синоназальной меланомы и меланомы вульвы; все мутации были чувствительны к ингибиторам тирозинкиназ. При анализе 48 образцов меланомы хориоидеи в 78 % выявлены мутации *GNAQ* и *GNA11* и в 4 % — мутации *KIT*. В 7 образцах меланомы конъюнктивы выявлены мутации *BRAF* (57 %) и *NRAS* (14 %).

Выводы. Мутационный статус строго ассоциирован с локализацией, гистологическим типом меланомы и УФ-облучением. Определение мутаций онкогенов важно для выбора тактики лечения и персонализированной таргетной терапии больных различными вариантами меланомы.

Роль 2p21 и 11q13.3 в этиологии рака почки

О.В. Шаньгина, А.Ф. Мукерия, В.А. Юрченко, Д.Г. Заридзе

НИИ канцерогенеза ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, Москва

В рамках мультицентрового молекулярно-эпидемиологического исследования рака почки проведены полногеномные исследования в целях идентификации геномных вариантов, влияющих на риск развития заболевания, и их взаимодействия с факторами окружающей среды. В результате идентифицированы 2 локуса на хромосомах 2p21 и 11q13.3, которые встречались значительно чаще у больных, чем у здоровых лиц. Два варианта: rs11894252 и rs7579899, расположенные в локусе на коротком плече хромосомы 2 (2p21), соответствуют расположению гена *EPAS1*, который кодирует HIF-2 α — транскрипционный фактор, участвующий в VHL—HIF-механизме канцерогенеза в почке. Второй локус rs7105934 на хромосоме 11q13.3 не содержит известных генов. Риск рака почки повышен среди индивидов с вариантом полиморфизма rs7579899 на хромосоме 2 (2p21) только у курильщиков или прекративших курить (относительный риск (ОР) 1,3; 95 % доверительный интервал (ДИ) 1,1–1,4; ОР 1,2; 95 % ДИ 1,1–1,3 соответственно), но не у никогда не куривших (ОР 1,0; 95 % ДИ 0,9–1,1). Полученные результаты свидетельствуют о том, что ген *EPAS1* является ключевым в канцерогенезе рака почки и что влияние полиморфизма этого гена на риск возникновения рака почки зависит от фактора курения. Дальнейший анализ участка на коротком плече хромосомы 2 (2p21), который ассоциирован с почечно-клеточным раком, позволил идентифицировать еще несколько аллелей (однонуклеотидных полиморфизмов) высокого риска для почечно-клеточного рака. На участке rs9679290 (ОР 1,27; 95 % ДИ 1,17–1,39) были выявлены 2 новых часто встречающихся локуса rs4953346 и rs12617313, которые, как выяснилось, не связаны с ранее обнаруженными rs11894252 и rs7579899. Генотипирование участка хромосомы 2 (2p21), содержащего rs12617313, подтвердило наличие его связи с риском почечно-клеточного рака (ОР 1,28; 95 % ДИ 1,18–1,39). Таким образом, установлено и подтверждено, что изменения на коротком плече хромосомы 2p21 играют немаловажную роль в этиологии почечно-клеточного рака и необходимы дальнейшие исследования в этой области.

Генетические и эпигенетические нарушения гена *AURKA* у больных хроническим лимфоцитарным лейкозом

Т.Г. Шкаврова, Г.Ф. Михайлова,
В.В. Цепенко, В.В. Павлов

Медицинский радиологический научный центр
им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский радиологический центр» Минздрава
России, Обнинск

Введение. В настоящее время исследователи уделяют много внимания изучению генетических и эпигенетических нарушений у онкологических больных. Хотя хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) является одним из наиболее изученных заболеваний, до сих пор остается неизвестной его этиология. Поиск генов, играющих ключевую роль в онкогенезе, ведется активно. В последнее время вызвал научный интерес ген *AURKA*, который играет существенную роль в регуляции митоза и регулирует кинетическую активность клеток. Метод интерфазной флуоресцентной *in situ* гибридизации (I-FISH) одновременно позволяет не только выявлять потерю или увеличение количества копий генов, но и оценивать частоту обнаружения клеток с асинхронной репликацией (АР). Время репликации генов — четко запрограммированный процесс, коррелирующий со стабильностью генома.

Работ по изучению асинхронной репликации и потери гена *AURKA* у больных ХЛЛ не проводилось.

Цель исследования — изучить АР и потерю копии гена *AURKA* у больных ХЛЛ.

Материалы и методы. Исследование выполнено на архивных образцах нестимулированных лимфоцитов 8 больных ХЛЛ и 8 клинически здоровых доноров методом I-FISH. Группа больных подобрана таким образом, что в нее вошли 4 человека (подгруппа 1), имевших высокую (73,5–93,0 %) частоту встречаемости клеток с del17p13, т. е. относившихся к группе плохого прогноза; и 4 человека (подгруппа 2), имевших del13q14 как единственное нарушение, т. е. относившихся к группе благоприятного прогноза. В работе использованы коммерческие молекулярные зонды фирмы Vysis (USA).

Результаты. Частота клеток с асинхронной репликацией гена *AURKA* у больных ХЛЛ колебалась в пределах 31,1–50,7 %, что достоверно выше контрольного показателя — $15,6 \pm 0,6$ %. В подгруппах 1 и 2 средняя частота клеток с АР составляла $46,4 \pm 1,5$ и $42,7 \pm 1,5$ % соответственно и достоверно не различалась. Частота клеток с потерей копии гена *AURKA* у 7 из 8 обследованных больных достоверно превышала контрольный уровень ($1,0 \pm 0,1$ %); в подгруппе 1 она была достоверно выше, чем в подгруппе 2, и в среднем составила $17,2 \pm 1,1$ и $6,1 \pm 0,6$ % соответственно.

Заключение. Предварительные данные показывают, что АР у больных ХЛЛ отражает нестабильность генома, а ген *AURKA* представляет интерес для дальнейшего исследования.