

сокотуморогенная Сао-подобная делеция 30 пар нуклеотидов. В то же время все исследованные образцы *LMP1* содержали в своей последовательности аминокислотную замену в 366-м (S366T) положении, характерную для его высокотуморогенных вариантов. В ряде образцов *LMP1* из обеих анализируемых групп удалось выявить дополнительные Сао-специфические мутации, например, замену глутамин на аргинин в 334-й (Q334R) позиции. Вместо типичной для Сао-варианта *LMP1* ВЭБ замены в 328-м положении глутаминовой кислоты на аланин (E328A) в изученных нами образцах *LMP1* мы обнаружили модифицированную замену в том же положении глутаминовой кислоты на глутамин (E328Q).

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о персистенции на территории Дальнего Востока специфических штаммов ВЭБ с последовательностями онкогена *LMP1*, отличающимися его от образцов на территории Центральной Европейской части России и ближайшего эндемичного региона Юго-Восточной Азии. Выявленные отдельные мутации, характерные для высокотуморогенных вариантов *LMP1*, при воздействии дополнительных факторов окружающей среды могут, вероятно, явиться важным фактором, стимулирующим ВЭБ-ассоциированный канцерогенез.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научно-исследовательских проектов (гранты № 14-04-01810_а, 15-34-70031_мол_а_мос).

Повышенный уровень рецепторов ErbB2/HER-2 в опухолевых клетках желудка связан с септиновой структурой клеток

Ш.У. Турдикулова¹, О.Н. Вагина²

¹Центр высоких технологий Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент;

²Калифорнийский Университет Лос-Анджелеса, Лос-Анджелес

Введение. Ген *HER-2*, известный также как *ErbB-2* или *HER-2/neu*, кодирует трансмембранный гликопротеин *HER-2*, который является представителем семейства рецепторов эпидермального фактора роста (epidermal growth factor receptor, EGFR). Все представители (*HER-1*, *HER-2*, *HER-3*, *HER-4*) семейства EGFR играют важную роль в нормальном развитии и дифференцировке клеток. Стимуляция этого рецептора приводит к запуску транскрипционных механизмов, что ускоряет пролиферацию и рост клеток. У человека рецептор *HER-2* выявляется в нормальных тканях, однако его гиперэкспрессия характерна только для опухолевых клеток. Гиперэкспрессия *HER-2* обнаруживается в 25–30 % случаев рака желудка, причем в 90–95 % случаев гиперэкспрессия *HER-2* является прямым

результатом амплификации гена *c-HER-2*. В доклинических и клинических исследованиях показано, что амплификация и/или гиперэкспрессия *HER-2* имеет ключевое значение в онкотрансформации и туморогенезе рака желудка и рака молочной железы. Механизм удержания белка *ErbB-2* на плазматической мембране раковых клеток остается неизвестным, и несомненно изучение факторов стабилизации белка *ErbB-2* на плазматической мембране имеет важное клиническое значение.

Задачи исследования. Изучение механизма удержания рецептора *ErbB-2* (*HER-2*) на клеточной мембране, роли септинов и их ингибирования в стабилизации *ErbB-2*-рецептора на плазматической мембране раковых клеток, а также влияния септин-2-ингибитора форхлорфенурина и si-RNA-нокдауна на уровень *ErbB-2* в *HER-2*-положительных раковых клетках

Результаты. Изучено взаимодействие септинов с *ErbB-2*-рецептором на плазматической мембране и выявлено, что оно является важным механизмом для поддержания высокого уровня этого онкогена в *HER-2*-положительных раковых клетках. В раковых клетках желудка наблюдалась высокая экспрессия септинов и *ErbB-2*-рецептора. Иммунопреципитация с последующей масс-спектрометрией идентифицировали *ErbB-2* в качестве септинсвязанного белка. si-РНК-нокдаун гена *септин 2* и обработка клеток веществом форхлорфенурон, ингибитором септиновой олигомеризации, уменьшали количество белка *ErbB-2* как на плазматической мембране, так и в целом в клетках, в то время как уровень другого плазматического рецептора из того же семейства EGFR не изменялся ни в том, ни в другом случае, что подтверждало специфичность данного процесса.

Ингибиторы септиновой организации, такие как FCF, могут рассматриваться в качестве таргетных препаратов против *HER-2*-положительных вариантов опухолей. Разработанная нами методика может быть эффективно использована для поиска и тестирования препаратов таргетного действия.

Отличия внутриклеточной локализации p53 дикого типа и мутантного p53 R175H в клеточной линии рака молочной железы MDA-MB-231 после теплового шока

М.А. Шкляева, А.В. Петухов, Н.А. Барлев, А.А. Дакс
ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург

Введение. Важнейший онкосупрессор p53 дикого типа (p53wt) активируется в ответ на разные формы стресса, включая тепловой шок. Мутации в ДНК-связывающем домене белка (в частности R175H) превра-

щают его в онкоген. Функция p53, как онкосупрессора, регулируется за счет ядерного экспорта и импорта белка. В норме p53wt присутствует в малых количествах в ядре. После стрессового воздействия часть p53wt экспортируется из ядра в цитоплазму на протеасомную деградацию. Однако мутантные формы p53 в опухолях стабильны и ведут к хеморезистентности. Так, p53 R175H после экспорта в цитоплазму не деградирует, а стабилизируется за счет образования многокомпонентных агрегатов. Управление деградацией мутантных форм p53 с помощью малых молекул является одним из перспективных направлений таргетной противораковой терапии.

Задачи исследования. Мы исследовали динамику внутриклеточной локализации p53 R175H и p53wt в разных временных точках после теплового шока.

Материалы и методы. Эксперименты проводили на линии MDA-MB-231, трансдуцированной лентивирусными векторами, экспрессирующими p53mut и p53wt, сшитыми с зеленым флуоресцентным белком. Тепловой шок проводили при 42 °C в течение 45 мин.

Детектировали сигнал методом флуоресцентной микроскопии.

Результаты. Мы показали, что локализация p53wt отличается от локализации p53 R175H. При фиксации сразу после обработки тепловым шоком p53wt локализуется в ядре. При этом p53 R175H сразу после теплового шока наблюдается в цитоплазме. При фиксации клеток через 4 ч p53wt обнаруживается и в ядре, и в цитоплазме, а p53 R175H — преимущественно в ядре. Ранее описанные агрегаты p53 R175H мы не выявили.

Выводы. Таким образом, мы впервые показали, что поведение p53 R175H в ответ на тепловой шок противоположно p53wt. Ранний выход p53 R175H из ядра может объясняться его взаимодействием с убиквитинлигазой Mdm2, в отличие от p53wt, который связан с ДНК. Импорт мутантного белка в ядро через 4 ч может быть опосредован Hsp70, который селективно взаимодействует с p53mut, но не с p53wt. Для выяснения механизмов необходимы дальнейшие исследования.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 14-50-00068).

СЕКЦИЯ III

ГЕНОМИКА И ЭПИГЕНОМИКА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ
НОВООБРАЗОВАНИЙ

Доклады

Гиперметилированные гены микроРНК
как потенциальные маркеры
при светлоклеточном раке почки

Е.В. Береснева¹, В.И. Логинов², Д.С. Ходырев³,
И.В. Пронина^{2, 4}, Т.П. Казубская⁵, Н.Е. Кушлинский⁵,
А.В. Карпухин⁴, Э.А. Брага^{2, 4}

¹ФГУП «Государственный научно-исследовательский
институт генетики и селекции промышленных
микроорганизмов», Москва;

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей
патологии и патофизиологии», Москва;

³ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр
специализированных видов медицинской помощи
и медицинских технологий» Федерального медико-биологиче-
ского агентства, Москва;

⁴ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва;

⁵ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. В России наблюдается высокий уровень смертности от светлоклеточного почечно-клеточного рака (скПКР), что связано с поздним выявлением этого заболевания. Для ранней диагностики рака, в частности скПКР, перспективно применение биомаркеров, к которым относятся профили экспрессии и метилирования микроРНК.

Задачи исследования. Поиск генов микроРНК, гиперметилирование которых в опухолях может служить эффективным маркером для диагностики и прогноза скПКР.

Материалы и методы. Профиль метилирования 7 генов микроРНК (miR-9-1/3, miR-34b/c, miR-124a-1/2/3 и miR-129-2) исследовали в образцах ДНК опухолевой и гистологически неизменной тканей 50 больных скПКР методами бисульфитной конверсии ДНК с последующей метилспецифичной полимеразной цепной реакцией.

Для количественной оценки отобранных маркеров и систем маркеров применяли метод ROC-анализа.

Результаты. При скПКР обнаружен высокий уровень метилирования 7 генов (miR-9-1/3, miR-34b/c, miR-124a-1/2/3, miR-129-2) и показана корреляция гиперметилирования 5 генов микроРНК с клиническими характеристиками скПКР, такими как стадия, размер опухоли, степень дифференцировки и метастазирование. Высокие значения чувствительности (88 %), специфичности (94 %) и площади под ROC-кривой (area under ROC curve, AUC) (0,83–0,84) были получены для диагностических систем из 4 маркеров. Среди изученных генов микроРНК ген *miR-129-2* оказался эффективным маркером прогноза прогрессии, включая метастазирование скПКР (чувствительность — 75 %; специфичность — 79 %; AUC — 0,77).

Выводы. Ряд генов микроРНК предложены как эффективные биомаркеры для ранней диагностики и прогноза скПКР.

Переключение экспрессии изоформ
субъединицы РНFI0
ремоделирующего хроматин
комплекса РВAF в процессе
дифференцировки клеток крови

Г.М. Вирясова¹, Н.В. Сошникова², Ю.П. Симонов²,
Г.Ф. Судьина¹, С.Г. Георгиева²

¹НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского
ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва;

²ФГБУН «Институт биологии гена РАН», Москва

Введение. Дифференцировка нейтрофилов происходит из гематopoэтических стволовых клеток по ми-

елоидному пути. В ходе дифференцировки возникают изменения в экспрессии генов, которые приводят к значительной специализации клеток и изменению морфологии. При нарушениях и сбоях процессов дифференцировки промиелоцитов возникает промиелоцитарная лейкемия. Ремоделирующий хроматин комплекс PBAF (SWI/SNF) — один из наиболее важных мультибелковых комплексов, контролирующих транскрипцию генов и влияющих на дифференцировку клеток. Предполагается, что именно специфические субъединицы комплекса определяют паттерны экспрессирующихся генов в разных типах клеток. Альтернативные субъединицы PBAF комплекса могут являться не только различными белками, но и изоформами одного белка, которые имеют способность функционально отличаться.

Задачи исследования. Изучение роли замены субъединиц комплекса PBAF в процессе дифференцировки промиелоцитов человека в нейтрофилы.

Материалы и методы. Модельной системой являлись раковая линия HL-60, дифференцированные из нее 2 мкМ транс-ретиноевой кислотой миелоциты и нейтрофилы, выделенные из крови здоровых доноров. Для подтверждения дифференцировки применяли микроскопию и полимеразную цепную реакцию с обратной транскрипцией. Уровень экспрессии субъединиц определяли с использованием проточной цитометрии, вестерн-блоттинга и иммунопреципитации.

Результаты. На 3-й и 6-й день дифференцировки наблюдали изменения в структуре ядра клеток, увеличение экспрессии специфических маркеров CD66 (a и b) и падение экспрессии генов клеточного цикла CyclinD1 и P21, которые сравнивали с нейтрофилами. Было выявлено, что в ходе дифференцировки в ряду недифференцированные HL-60—дифференцированные HL-60—нейтрофилы происходит уменьшение экспрессии субъединиц комплекса, например, Brg1 и Baf200.

Было проанализировано содержание различных изоформ субъединицы PHF10 на разных этапах дифференцировки. Субъединица PHF10 имеет 4 изоформы (PI, Ps, SI и Ss), отличающиеся наличием или отсутствием N-концевого и PHD-доменов. В ходе дифференцировки клеток по миелоидному пути происходит замена изоформы PHF10-PI на PHF10-Ss. В дальнейшем планируется изучить влияние PBAF-комплекса на экспрессию специфических генов в ходе дифференцировки промиелоцитов.

Выводы. На основании полученных данных можно сделать следующие выводы:

- при дифференцировке клеток крови по миелоидному пути снижается экспрессия субъединиц PBAF-комплекса;
- происходят качественные изменения состава комплекса как минимум в 1 из субъединиц: изоформа PHF10-PI заменяется на изоформу PHF10-Ss.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 16-34-00531_мол_а).

Выявление потенциально драйверных соматических мутаций в опухолевых тканях на основании данных полнотранскриптомного секвенирования

Н.Л. Лазаревич^{1,2}, Е.Р. Набиева², Д.В. Виноградов²⁻⁴,
Н.С. Мюге^{2,4}, М.Д. Логачева^{2,3}, А.А. Пенин^{2,3},
М.А. Пятницкий^{4,5}, Д.А. Шавочкина¹, И.Ф. Кустова¹,
А.С. Макарова^{1,2}, О.М. Кривцова^{1,2}, Н.Е. Кудашкин¹,
Ю.И. Патютко¹, Е.А. Котельникова^{3,4}

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

²ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва;

³ФГБУН «Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН», Москва;

⁴ЗАО «Персональная Биомедицина», Москва;

⁵ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича», Москва

Развитие технологий массового параллельного секвенирования (NGS) открывает значительные перспективы в идентификации фундаментальных механизмов злокачественной трансформации и разработке подходов к выбору индивидуализированной тактики лечения онкологических заболеваний. Главная проблема такого подхода — отсутствие устоявшихся алгоритмов анализа огромного массива данных NGS. Важной представляется разработка методов, позволяющих среди значительного количества геномных нарушений идентифицировать «драйверные мутации», являющиеся непосредственной причиной возникновения и прогрессии опухолей.

Гепатоцеллюлярная карцинома (ГК) — наиболее распространенная форма злокачественных опухолей печени, характеризующаяся поздними сроками выявления, высокой агрессивностью, отсутствием эффективных схем лечения и значительной гетерогенностью вызывающих ее генетических изменений. Мы разработали подход для выявления «драйверных» мутаций на основе комплексного анализа генетических нарушений по результатам секвенирования экзона и транскриптома нормальной и опухолевой ткани. Апробация предложенного метода показала, что среди нескольких сотен значащих соматических мутаций, выявляемых при полноэкзомном секвенировании, в опухолевой ткани экспрессируются лишь 10–20. Среди транскрибируемых мутаций значительную долю составляют мутации в генах, нарушение функции которых с высокой вероятностью определяет формирование злокачественного фенотипа ГК.

Помимо соматических мутаций, анализ данных полнотранскриптомного секвенирования позволил выявить характерные для опухолевой ткани слитные белки (например, химерный белок с онкогенными свойствами DNAJB1-PRKACA, определяющий развитие отдельного подкласса фиброламеллярной ГК и рас-

смагивающийся как потенциальная терапевтическая мишень).

*Работа частично поддержана субсидией
Минобрнауки России (соглашение 14.607.21.0049,
RFMEFI60714X0049).*

Эпигенетические маркеры рака молочной железы, полученные по результатам секвенирования метиломов

А.С. Танас¹, Т.В. Кекеева¹, Е.Б. Кузнецова²,
Е.В. Поддубская³, Р.А. Керимов³, И.Д. Троценко⁴,
В.В. Руденко¹, Д.В. Залетаев², В.В. Стрельников¹

¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва;

²ФГБОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова»

Минздрава России, Москва;

³ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

⁴ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва

Введение. Идентификация отдельных подтипов злокачественных новообразований, предполагающих различные подходы к их лечению, — актуальная проблема онкологии. Для рака молочной железы (РМЖ) уже предложена классификация подтипов, основанная на различиях экспрессии генов. Однако определение уровня экспрессии в клиническом образце осложняется наличием примеси нормальной ткани и низким качеством РНК, получаемой из архивных материалов. В качестве альтернативы рассматривается возможность использования для классификации подтипов РМЖ профилей метилирования ДНК геномов опухолей.

Задачи исследования. Разработать метод широко-геномного секвенирования ДНК, позволяющий определять состояние метилирования тысяч генов в больших выборках образцов клинического материала. Проанализировать не менее 100 образцов РМЖ и выделить эпигенетические подтипы заболевания. Определить маркеры метилирования ДНК, ассоциированные с клинико-морфологическими свойствами опухолей и ответом на неоадьювантную химиотерапию.

Материалы и методы. Были исследованы 6 образцов клеточных линий РМЖ, 10 образцов нормальной ткани молочной железы и 110 операционных образцов РМЖ. Исследование метиломов проводили с использованием собственной модификации метода бисульфитного секвенирования ограниченных выборок локусов HpaI-RRBS.

Результаты. Проанализированы эпигеномные различия нормальных и опухолевых тканей молочной железы. Выявлены группы генов, аномальное метилирование которых характерно для эпигенетических подтипов РМЖ. Впервые показано, что по уровню метилирования ДНК нормальная ткань в наибольшей степени отличается от РМЖ в области промотора гена транскрипционного фактора ZIC4 (частота аномаль-

ного метилирования в гетерогенной выборке образцов РМЖ, стратифицированной по иммуногистохимическим подтипам, составила 96 %; в нормальных тканях молочной железы метилирование отсутствует). Определено 114 генов, частоты дифференциального метилирования которых достоверно отличают 2 эпигенетических подтипа РМЖ верхнего уровня: гиперметилированный и умеренно метилированный. Предложена система маркеров метилирования ДНК для диагностики эффективности неоадьювантной терапии РМЖ с использованием антрациклинов.

Выводы. Разработанная авторами технология широкогеномного скрининга метилирования ДНК позволяет сформировать независимую эпигеномную классификацию РМЖ. Выявленные маркеры могут использоваться для разработки систем диагностики эффективности противоопухолевой терапии.

Изучение связи генетического полиморфизма с экспрессией ABC-транспортеров в опухоли молочной железы при химиотерапии

М.М. Цыганов^{1,2}, И.В. Дерюшева^{1,3}, М.К. Ибрагимова^{1,2},
Е.М. Слонимская^{1,3}, Н.В. Литвяков^{1,2}

¹НИИ онкологии ФГБНУ «Томский НИИЦ РАН», Томск;

²ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск;

³ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск

Введение. Основной причиной неэффективности неоадьювантной химиотерапии (НХТ) опухоли считают формирование под действием лекарственных средств фенотипа адаптивной множественной лекарственной устойчивости (МЛУ), который обусловлен повышением экспрессии генов ABC-транспортеров [N.V. Litviakov et al., 2013]. Механизмы регуляции экспрессии генов ABC, которые связаны с индивидуальными генетическими особенностями опухоли, определяемыми однонуклеотидным полиморфизмом (single nucleotide polymorphism, SNP), не изучены.

Задачи исследования. Широкогеномное исследование ассоциации SNP и экспрессии генов ABC-транспортеров в опухоли молочной железы при проведении НХТ.

Материалы и методы. Обследованы 84 больных раком молочной железы (IIA–IIIB). Пациенты получали 2–4 курса НХТ. Оценку экспрессии генов ABC выполняли в 84 парных образцах до лечения и после НХТ (количественная полимеразная цепная реакция). ДНК из биоптата использовали для микроматричного анализа на чипе CytoScan HD Array (Affymetrix, США) и получения данных по 750 000 SNP. Связь экспрессии генов ABC с SNP оценивали с помощью программы R version 3.0.2.

Результаты. Идентифицированы 4 из 136 изученных SNP в генах ABC-транспортеров, которые связаны с их экспрессией. Кроме этого, доказано наличие в опухоли молочной железы функционального экспрессионного кластера 4 генов ABC (*ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2* и *ABCG2*), который сопряжен с формированием адаптивной МЛУ и прогнозом заболевания. На основании полученных данных была построена ассоциативная сеть из 25 генов, участвующих в регуляции кластера ABC. Идентифицирована и валидирована панель 19 полиморфизмов, у которых дикий и мутантный генотипы в опухоли до лечения сопряжены со снижением либо повышением экспрессии кластера генов ABC и ответом на НХТ.

Выводы. Показана важная роль SNP в регуляции экспрессии генов ABC-транспортеров. Выявлено, что формирование адаптивной МЛУ сопряжено с работой группы генов ABC. На основе результатов исследования сформирована и клинически валидирована генетическая панель из 19 полиморфизмов для прогнозирования направления изменения экспрессии кластера генов ABC в опухоли молочной железы при химиотерапии.

Investigation of EGFR polymorphisms in Non small cell lung cancer

V. Jurisic

University of Kragujevac, Faculty of Medical Sciences, Kragujevac

Background. Epidermal growth factor receptor (EGFR) was usually over expressed in many epithelial cancers

including lung cancer. Regulation of EGFR expression is under investigation and it is not completely elucidated, so it is under the influence of different factors. The polymorphisms are described as 2 or more different forms of the same gene (allele) that are settled in the same genetic locus. Still it is unclear relation between those EGFR mutations and their polymorphisms (SNPs), but they were connected with enhanced promoter activity, with increased gene and protein expression, and some side effects of therapy for NSCLC.

Objective. Aims of this study was to shown distribution of EGFR polymorphisms in Serbian population after standardisation of methods and compared obtained data with results from different ethnic populations.

Material and methods. Here we optimized methods for investigation PCR reaction including standardization of different additives, temperature and other conditions for amplification promoter regulators of EGFR, including -216G>T, -191C>A and 181946 C>T (SNPs). This study involved 47 NSCLC patients and 43 health persons for SNPs investigation.

Results. Results showed that the most frequent haplotypes in both NSCLC patients and healthy subjects in Serbia were CG (54.96 %), CT (27.36 %), while AG (16.38 %) and AT where present at 1.30 %. Caucasians and Afro-Americans had more frequent -216G/T than Asians, but -191C/A was present only in Caucasians. SNPs -216G>T and -191C>A discussed here, were present with different frequency in great ethnic groups.

Conclusions. According to those considerations, it could be noticed that investigation of SNPs could be of benefit as potential pharmacogenetic biomarker for efficacy and safety of therapy for NSCLC.

Постеры

Изменение копийности генов у пациентов с диагнозом рака желудка

Д.И. Водолажский, М.З. Татимов, А.А. Маслов,
Н.Н. Тимошкина

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону

Введение. Рак желудка (РЖ) — гетерогенное заболевание, характеризующееся различными гистологическими, анатомическими и молекулярными особенностями. Одним из ключевых механизмов онкогенеза служит изменение копийности генов, так как результатом этого генетического полиморфизма может стать снижение или повышение экспрессии онкоассоциированных генов.

Задачи исследования. В настоящем исследовании была изучена относительная копийность (RCQ) 16 ядерных генов — участников ключевых сигнальных путей, регулирующих рост клетки, выживание, метастазирование и устойчивость к химиотерапии (*APC*, *AURKA*, *CCND1*, *c-MYC*, *GKN1*, *GSTP1*, *HER2*, *IRX1*, *MDM2*, *MET*, *NFKB*, *OCT1*, *P53*, *PIK3CA*, *POU5F1B* и *S6K2*), — и некодирующего локуса HV2 митохондриальной ДНК (мтДНК), потеря копийности которого является распространенным событием в различных неоплазиях.

Материалы и методы. RCQ определяли методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в операционных образцах РЖ и соответствующих им условно здоровых тканей желудка. Копийность считали измененной, если отношение $RCQ_{\text{опухоль}}/RCQ_{\text{норма}}$ было $> 1,5$ или $< 0,5$. В исследование вошли 34 пациента (22 мужчины и 12 женщин; медиана возраста — 66 лет) с диагнозом: РЖ, G₂₋₃ аденокарцинома, из них 14 опухолей классифицированы как T3—4N0M0, 19 — T3—4N1—2M0.

Результаты. Выявлено увеличение копийности 8 генов (*AURKA*, *CCND1*, *c-MYC*, *HER2*, *NFKB*, *OCT1*, *PIK3CA*, *POU5F1B*), потеря копийности зафиксирована для 2 генов-онкосупрессоров (*IRX1* и *P53*). Отметим, что амплификация *POU5F1B* сопровождалась увеличением копийности *c-MYC*; оба эти онкогена локализуются рядом на хромосоме 8q24. Наиболее частым событием стала потеря копийности локуса мтДНК HV2 — в 9 (26 %) случаях, и в 1 случае HV2 был амплифицирован. В образцах опухолей РЖ первичной распространенности отмечена тенденция повышения уровня копийности как по отдельным амплифицированным локусам (например, для гена *c-MYC* медиана RCQ составила 1,53 в группе T3—4N0M0 против 4,57 в группе T3—4N1—2M0), так и по всем локусам (медиана RCQ — 1,62 и 2,26 соответственно в группах без

поражения и с поражением регионарных лимфатических узлов). Кроме этого, индикаторным маркером группы T3—4N1—2M0 стал ген *HER2*, амплификация которого отсутствовала в опухолях без поражений лимфатических узлов. В целом 16 (47 %) образцов неоплазий желудка продемонстрировали амплификацию и/или потерю хотя бы по одному ядерному гену.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют о значимой роли изменений копийности исследованных генов в процессах потенциальной онкотрансформации и дальнейшего рецидивирования клеток эпителия желудка, что, очевидно, поможет в разработке биомаркеров РЖ.

Оценка молекулярного профиля микроРНК при раке молочной железы

Е.А. Гутковская

ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова», агрогородок Лесной, Минский район

Введение. В структуре онкологических заболеваний у женщин рак молочной железы (РМЖ) является одной из наиболее агрессивных и относительно часто встречающихся форм злокачественных новообразований. В настоящее время предполагается, что молекулярно-генетические нарушения в системе микроРНК играют важную роль в развитии и прогрессировании РМЖ.

Задачи исследования. Оценить уровень экспрессии панели микроРНК (miR-145, miR-34a, miR-155, miR-182, miR-125b, let-7c, miR-30c, miR-10b, miR-200c, miR-221) при РМЖ.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили 128 образцов опухолевой ткани, заключенной в парафиновые блоки, пациенток с РМЖ II—III стадии. Молекулярно-генетическое исследование выполняли с использованием метода полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Оценку уровня экспрессии микроРНК осуществляли методом 2-ΔΔCt. В качестве референсного гена использовали малые ядерные РНК RNU1.

Результаты. В анализируемой группе пациенток наиболее частым морфологическим вариантом опухоли была протоковая аденокарцинома (77,3 %) с умеренной степенью дифференцировки (78,9 %) люминального В-подтипа (36,7 %).

При проведении молекулярно-генетического тестирования изменения в уровне экспрессии miR-125b детектированы у 40,6 % пациенток, miR-145 — у 54,2 %, miR-34a — у 21,1 %, miR-155 — у 53,1 %, let-7c —

у 34,4 %, miR-30c — у 32,8 %, miR-10b — у 61,7 %, miR-200c — у 52,4 % и miR-221 — у 27,3 %. Характер экспрессии miR-125b, let-7c, miR-30c, miR-145, miR-34a, miR-10b соответствовал низкому уровню, miR-155, miR-200c и miR-221 — высокому.

Установлено, что aberrантная экспрессия исследуемых микроРНК наиболее характерна для умеренно дифференцированной протоковой аденокарциномы люминального В-подтипа при отсутствии статистически значимых различий между спектром эпигенетических нарушений и клинико-морфологическими характеристиками РМЖ.

Изучение прогностической роли микроРНК при прогрессировании заболевания ($n = 59$) также не выявило значимых различий в спектре нарушений в экспрессии исследуемых микроРНК по сравнению с пациентками без прогрессирования РМЖ ($n = 69$).

Выводы. РМЖ характеризуется наличием выраженных нарушений в системе микроРНК, однако статистически значимой связи между нарушением в экспрессии исследуемых микроРНК и клинико-морфологическими характеристиками РМЖ, прогнозом течения заболевания не установлено.

Частота и распределение различных типов мутации гена *VHL* в светлоклеточных карциномах почек

Т.А. Жинжило¹, Д.С. Михайленко², А.В. Колпаков³,
Т.В. Кекеева⁴, Н.Е. Кушлинский⁵, М.В. Немцова⁶

¹ФГАУ «Лечебно-реабилитационный центр»
Минздрава России, Москва;

²ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, Москва;

³ГБУЗ «Тамбовская областная клиническая больница
им. В.Д. Бабенко», Тамбов;

⁴ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва;

⁵ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

⁶ФГБОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова»
Минздрава России, Москва

Введение. Рак почки — 2-е по частоте встречаемости онкологическое заболевание мочеполовой системы, 75 % случаев которого представлены светлоклеточной карциномой (СКК). Среди молекулярно-генетических нарушений при развитии СКК наиболее распространенной является инактивация гена *VHL* вследствие мутаций. Ген-супрессор *VHL* локализован в области 3p25, содержит 3 экзона и кодирует белок, ответственный за убиквитин-зависимый протеолиз индуцируемого гипоксией фактора (hypoxia-inducible factor, HIF) — положительного регулятора клеточной пролиферации. Соматические мутации в гене *VHL* встречаются во всех экзонах, в то время как герминальные мутации при синдроме Хиппеля—Линдау имеют локальные максимумы встречаемости.

Задачи исследования. Поиск соматических мутаций и характеристика особенностей их локализаций в кодирующей последовательности гена *VHL*.

Материалы и методы. Исследовали 60 замороженных образцов опухолевой ткани СКК. Геномную ДНК выделяли методом фенол-хлороформной экстракции. Мутации в гене *VHL* выявляли с помощью полимеразной цепной реакции экзонов 1–3 и последующего секвенирования по Сэнгеру на капиллярном генетическом анализаторе 3500 × 1.

Результаты. Мутации гена *VHL* были определены в 31 (51,6 %) из 60 образцов СКК. Из них 13 (41,9 %) мутаций представлены однонуклеотидными заменами, 10 (32,3 %) — делециями, 5 (16,1 %) — инсерциями, остальные 2 (6,4 %) приходятся на комплексные мутации. В 19 (61,3 %) из 31 случая мутации привели к сдвигу рамки считывания и формированию новых стоп-кодонов. Среди однонуклеотидных замен выявлены 2 (15,4 %) нонсенс-мутации и 1 (6,6 %) мутация сайта сплайсинга. В 1-м экзоне обнаружено 54,8 % (17/31) мутаций, во 2-м — 29 % (9/31), и 16,1 % (5/31) мутаций приходилось на 3-й экзон гена *VHL*. Показано, что 11 (84,6 %) из 13 выявленных случаев миссенс-мутаций локализованы в области β-домена, играющего ключевую роль в выживании опухолевой клетки в условиях гипоксии, среди них 3 (27,2 %) — в области связывания с HIF и 2 (18,2 %) — в районах связывания с протеинкиназами нескольких типов.

Выводы. Анализ локализации и характера соматических мутаций *VHL* позволяет расширить наши представления о механизмах инактивации этого гена в канцерогенезе СКК. Накопление сведений о новых мутациях *VHL* позволяет дополнять соответствующие базы данных, что имеет прикладное значение при интерпретации выявленных мутаций у пациентов с подозрением на наследственную форму СКК — синдром Хиппеля—Линдау.

Оверэкспрессия семейства микроРНК miR-83, -96, -182 может вносить вклад в одновременную инактивацию потенциальных генов-супрессоров CTDSPL1/2 при немелкоклеточном раке легкого

Г.С. Краснов¹, Г.А. Пузанов¹, А.Д. Бениаминов¹,
А.А. Дмитриев¹, Т.Т. Кондратьева², В.Н. Сенченко¹

¹ФГБУН «Институт молекулярной биологии
им. В.А. Энгельгардта РАН», Москва;

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

Введение. Семейство С-концевых малых сериновых фосфатаз (SCP) — CTDSP1, CTDSP2 и CTDSPL — играет регуляторную роль в ряде важных клеточных про-

цессов и сигнальных путей. В частности, показано, что CTDSPL может активировать опухолевый супрессор Rb, ключевой регулятор клеточного цикла, за счет дефосфорилирования сериновых остатков. Несмотря на то, что вопрос о дефосфорилировании Rb другими членами семейства (CTDSP1 и CTDSP2) остается открытым, высокая степень гомологии последовательностей и сходства третичной структуры всех членов семейства указывает на близость их функций.

Задачи исследования. Биоинформатический поиск возможных общих микроРНК-регуляторов для фосфатаз CTDSP1, CTDSP2 и CTDSPL. Подтверждение предсказанных микроРНК количественным методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени.

Материалы и методы. Специально разработана оригинальная программа CrossHub [Krasnov G.S. et. al. CrossHub: a tool for multi-way analysis of The Cancer Genome Atlas (TCGA) in the context of gene expression regulation mechanisms. *Nucleic Acids Res* 2016;44 (7):e62] для осуществления комплексного поиска возможных микроРНК-регуляторов генов семейства SCP-CTDSPL/1/2 и Rb1 — в случае немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ). Поиск основан на совместном анализе ко-экспрессии генов и микроРНК, а также возможных сайтов посадки микроРНК в 3'-UTR матричной РНК (мРНК). Для этого использовали 5 различных алгоритмов предсказания: TargetScan, DIANA microT, mirSVR (miRanda), PicTag и базу данных экспериментально валидированных микроРНК-мишеней miRTaRBase. Для каждой базы рассчитан коэффициент информативности (на основе согласованности с данными по ко-экспрессии всех мРНК и микроРНК). Подтверждение предсказанных микроРНК осуществляли методом ПЦР в реальном времени на 28 парных образцах рака легкого.

Результаты. С помощью программы CrossHub предсказано участие кластера онкогенных микроРНК miR-183, -96, -182 в подавлении экспрессии генов CTDSPL/1/2. С помощью количественной ПЦР получено убедительное подтверждение предсказанного одновременного повышения уровней экспрессии всех 3 микроРНК в большинстве (82 %) образцов НМРЛ, наряду с падением экспрессии генов CTDSPL/1/2, и найдена их значимая отрицательная корреляция.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют об участии кластера miR-183, -96, -182 в регуляции активности белка Rb посредством инактивации всех 3 генов CTDSPL/1/2 при НМРЛ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 14-50-00060).

Анализ аллель-специфической экспрессии генов при гепатоцеллюлярной карциноме на основе данных экзомного и транскриптомного секвенирования

О.М. Кривцова^{1,2}, Е.Р. Набиева², Д.В. Виноградов^{2,3}, М.Д. Логачева^{2,3}, А.А. Пенин^{2,3}, Н.Л. Лазаревич^{1,2}

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

²ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва;

³ФГБУН «Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН», Москва

Введение. Аллель-специфическую экспрессию (АСЭ) генов связывают с развитием некоторых наследственных заболеваний, включая наследственные формы опухолей толстого кишечника, однако вопрос о механизмах АСЭ в опухолях и вкладе конкретных однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphisms, SNP) в развитие опухолевого фенотипа недостаточно изучен. В литературе роль АСЭ в гепатоканцерогенезе практически не описана.

Задачи исследования. На основании данных экзомного и транскриптомного секвенирования парных образцов нормальной ткани и гепатоцеллюлярной карциномы (ГК) выявить гены, аллель-специфически экспрессирующиеся в опухолях (АСЭ-гены), и функционально значимые герминативные варианты.

Материалы и методы. Проведены идентификация SNP в данных экзомного и транскриптомного секвенирования 5 пациентов, аннотация АСЭ-генов и SNP на основе информации из открытых баз данных.

Результаты. Выявлены 582 уникальных дифференциально экспрессирующихся аллелей в 486 генах, включая аллели, характеризующиеся наличием общего паттерна экспрессии у нескольких пациентов, а также 56 предположительно патогенных редких SNP, встречающихся менее чем у 5 % особей в популяции. Среди АСЭ-генов широко представлены гены, относящиеся к категории GeneOntology “DNA binding”, к сигнальному каскаду IGF-1 и являющиеся мишенями участвующих в канцерогенезе транскрипционных факторов TCF3/E47, MYC, MAZ и FOXO4, которые активированы в исследованных образцах ГК. Выявлена неравномерность распределения АСЭ-генов, существенная часть которых сконцентрирована в нескольких участках хромосом 1, 6, 16 и 19. Эта тенденция наиболее выражена в образцах ГК с внутриспеченочным метастазированием. Паттерн АСЭ в метастазах частично изменяется по сравнению с первичной опухолью, при этом его отличие от паттерна АСЭ в нормальной ткани сохраняется.

Выводы. Мы предполагаем, что АСЭ некоторых функционально значимых SNP может способствовать

формированию злокачественного фенотипа ГК. Анализ паттернов АСЭ в ГК позволяет предположить, что в основе процесса лежат эпигенетические механизмы регуляции экспрессии генов.

Работа частично поддержана субсидией Минобрнауки России (соглашение 14.607.21.0049, RFMEFI60714X0049).

Маркеры аномального метилирования ДНК при остром миелоидном лейкозе у детей

В.В. Руденко¹, С.А. Казакова², А.С. Танас¹,
В.С. Немировченко³, А.В. Попа³, Е.Б. Кузнецова²,
Д.В. Залетаев², В.В. Стрельников¹

¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва;

²ФГБОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова»
Минздрава России, Москва;

³ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Злокачественные новообразования характеризуются выраженной молекулярно-генетической гетерогенностью. Мажорные мутации или геномные перестройки описаны далеко не для всех типов опухолей, что затрудняет разработку диагностических и прогностических клинических тестов. В то же время существует класс молекулярно-генетических изменений, присущий всем злокачественным опухолям — аномальное метилирование геномной ДНК.

Задачи исследования. Разработка системы маркеров метилирования ДНК при остром миелоидном лейкозе (ОМЛ) у детей. Диагностический потенциал aberrантного метилирования может быть использован для идентификации подтипов ОМЛ, имеющих различную чувствительность к используемым терапевтическим режимам.

Материалы и методы. Наше исследование включает 53 образца костного мозга пациентов до лечения и после курсов химиотерапии, проведенных совместно с курсом деметилирующей терапии. Первичную идентификацию aberrантного метилирования ДНК осуществляли методом непредвзятого скрининга дифференциального метилирования геномов, разработанным в рамках настоящего исследования. Частоту метилирования маркеров оценивали с использованием системы мультиплексных метилчувствительных полимеразных цепных реакций с внутренними контролями.

Результаты. Для оценки аномального метилирования была предложена система, состоящая из маркеров, принадлежащих промоторным участкам генов *CLDN7*, *CXCL14*, *DLK2*, *GSG1L*, *KHSRP*, *SOX8*, *TMEM176A/176B*. Маркеры метилирования определяли на участках рестрикции фермента BstHNI, поскольку наличие многих сайтов рестрикции данного фермента в пределах изучаемых локусов позволяет определить однородность метилирования CpG по всему региону. Частота мети-

лирования (в %) отобранных маркеров (частота метилирования маркера до лечения/после 1–2 курсов химиотерапии/после 4–5 курсов химиотерапии): *CLDN7* (32,0/56,5/0), *CXCL14* (96,0/90,9/0), *DLK2* (11,3/0/0), *EGFLAM* (20,0/13,6/0), *GSG1L* (8,0/4,6/0), *SOX8* (57,9/7,7/0), *TMEM176A/176B* (60,0/50,0/0). В работе была показана статистически значимая ассоциация между статусом метилирования гена *TMEM176A/176B* и вовлечением центральной нервной системы в патологический процесс у больных ОМЛ до лечения ($p = 0,0183$).

Выводы. Дифференциальное метилирование генов в образцах до и после лечения может свидетельствовать о клональной эволюции злокачественной трансформации. Исследование предоставляет технические возможности при профилировании эпигенетических изменений конкретного пациента, что может быть использовано для развития индивидуализированных подходов в терапии ОМЛ.

Микросателлитная нестабильность и потеря гетерозиготности в клетках увеальной меланомы

С.В. Саакян¹, А.Ю. Пыганков¹, А.Г. Амирян¹,
В.И. Логинов², А.М. Бурденный²

¹ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, Москва;

²ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии»,
Москва

Введение. Увеальная меланома (УМ) — наиболее распространенная первичная внутриглазная опухоль у взрослого населения. Она характеризуется повышенной метастатической активностью в печень, что является фактором неблагоприятного исхода у 95 % пациентов вне зависимости от метода проведенного лечения. В различных международных исследованиях показана критическая роль в образовании геномной нестабильности и метастатической активности из-за потери гетерозиготности хромосом 1, 3 и 8, где роль моносомии хромосомы 3 наиболее значима.

Задачи исследования. Изучение потери гетерозиготности на хромосомах 1, 3 и 8 при УМ и их взаимосвязи с клинико-морфологическими характеристиками опухоли.

Материалы и методы. Анализ потерь гетерозиготности на хромосомах 1, 3 и 8 проводили на выборке из 38 гистологических препаратов, полученных от больных Центрального региона России. Все опухоли были гистологически подтверждены.

Результаты. При анализе потерь гетерозиготности на хромосоме 3 мы обнаружили полную моносомию в 8 (21 %) из 38 случаев. Кроме того, нами было показано, что потеря гетерозиготности выявляется также хотя бы в 1 из 11 исследованных локусов хромосомы 3 в 22 (57,9 %) из 38 случаев, в том числе в 5 (22,7 %)

случаях из 22 только в области FHIT (D3S4103–D3S1481, 3p14.2). Частота потерь гетерозиготности в локусе 1p36.22 составила 28,9 % (11/38), в локусах 8p12–p22 – 21 % (8/38). В 9 из 11 случаев с потерей гетерозиготности в локусе 1p36.21–22 мы также наблюдали потерю гетерозиготности на хромосоме 3 ($p = 0,03$). Также все случаи с потерей гетерозиготности на хромосоме 8 сопровождались аллельными потерями и на хромосоме 3 ($p = 0,018$). Выявлена высокая частота неблагоприятных клеточных типов УМ (смешанноклеточный и эпителиоидноклеточный) в образцах с полной моносомией хромосомы 3 по сравнению с образцами без потери гетерозиготности на хромосоме 3 (7/8 против 1/8; $p < 0,01$). Для группы пациентов с полной или частичной моносомией хромосомы 3 характерна значимо большая частота УМ цилиохориоидальной и иридоцилиохориоидальной локализации (13/22 против 1/8; $p = 0,039$).

Выводы. Изучены частоты аллельных делеций в хромосомах 1, 3 и 8 в образцах УМ. Показана критическая роль изученных хромосомных aberrаций при УМ, что может быть использовано для определения прогноза течения заболевания у группы больных с УМ.

Роль метилирования CpG-островков генов-супрессоров опухолевого роста *RASSF1A* и *SEMA3B* при увеальной меланоме

С.В. Саакян¹, А.Ю. Цыганков¹, А.Г. Амирян¹,
В.И. Логинов², А.М. Бурденный²

¹ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, Москва;

²ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», Москва

Введение. Увеальная меланома (УМ) — опухоль нейроэктодермального происхождения, развивающаяся из меланоцитов увеального тракта. УМ характеризуется повышенным метастазированием в печень, что сильно снижает эффективность лечения. В связи с этим возникает необходимость поиска молекулярно-генетических факторов риска развития УМ. Одним из таких факторов может быть аномальное метилирование генов-супрессоров опухолевого роста *RASSF1A* и *SEMA3B*.

Задачи исследования. Анализ частоты метилирования промоторных областей генов *RASSF1A* и *SEMA3B* и его связь с прогрессией УМ.

Материалы и методы. В исследование были включены 30 пациентов с гистологически подтвержденным диагнозом УМ. Во всех случаях проведена энуклеация пораженного глаза. Метилирование промоторных регионов генов *RASSF1A* и *SEMA3B* исследовали методом метил-чувствительного рестрикционного анализа.

Результаты. Высокая частота метилирования промоторного CpG-островка гена *RASSF1A* в образцах

опухоли по сравнению с интактной тканью хориоидеи, статистически значима (26,7 % против 3,3 %; $p = 0,026$). Показана статистически значимая ассоциация метилирования промоторного района гена *RASSF1A* с развитием наиболее благоприятного, веретенноклеточного гистологического типа УМ ($p = 0,049$), меньшей высотой опухоли ($p = 0,018$) и снижением акустической плотности в области верхушки опухоли по данным ультразвукового дуплексного сканирования ($p = 0,05$). Метилирование промоторного района гена *SEMA3B* ни в одном из исследуемых образцов не выявлено.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют о важной роли метилирования промоторного района гена *RASSF1A* как фактора благоприятного прогноза развития УМ. Роль метилирования промоторного района гена *SEMA3B* в развитии УМ не подтверждена.

Молекулярные маркеры прогрессирования рака мочевого пузыря

М.П. Смаль¹, А.И. Ролевич², Т.И. Набебина²,
С.А. Красный², Р.И. Гончарова¹

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск;

²ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова», агрогородок Лесной, Минский район

Введение. Рак мочевого пузыря (РМП) занимает лидирующее место среди онкологических заболеваний мочевыводящего тракта. На момент постановки диагноза у большинства (75–85 %) пациентов выявляются немышечно-инвазивные опухоли, составляющие гетерогенную группу злокачественных новообразований с различным риском рецидивирования и прогрессирования. Необходимым условием для выбора оптимальной тактики лечения является использование адекватных показателей для точного определения вероятности прогрессирования уротелиальной карциномы в мышечно-инвазивную форму. С этой целью в настоящей работе осуществлен поиск молекулярных маркеров, обладающих прогностической ценностью в отношении прогрессирования заболевания.

Материалы и методы. В исследование были включены 148 пациентов с раком мочевого пузыря без мышечной инвазии, на опухолевом материале которых проводили анализ мутационной изменчивости генов *FGFR3*, *HRAS*, *KRAS*, *TP53* и статуса метилирования промоторных областей генов *RUNX3* и *TBX4*.

Результаты. Установлена статистически значимая ассоциация мутаций генов *FGFR3* и *HRAS* с высокодифференцированными уротелиальными карциномами небольших размеров, тогда как молекулярные изменения генов *TP53*, *RUNX3* и *TBX4* были связаны с агрессивным опухолевым фенотипом. Моновариантный регрессионный анализ пропорциональных рисков

Кокса выявил потенциально значимые факторы прогноза ($p < 0,1$) для включения их в мультивариантный анализ. В многомерной модели с пошаговым исключением выявлены 3 показателя, независимо влияющие на риск прогрессирования опухоли: присутствие мутации гена *TP53* (отношение рисков (ОР) 15,88; 95 % доверительный интервал (ДИ) 3,12–80,84; $p = 0,001$), гиперметилирование генов *RUNX3* и *TBX4* (ОР 10,17; 95 % ДИ 1,93–53,59; $p = 0,006$), наличие предшествующих рецидивов (ОР 8,79; 95 % ДИ 1,98–38,92; $p = 0,004$). В случае молекулярных нарушений всех 3 генов 3-летняя выживаемость до прогрессирования составила 40 %, при их отсутствии – 97,7 % ($p < 0,001$). Показатель ОР при совместном наличии 3 неблагоприятных молекулярных показателей достиг 199,9 (95 % ДИ 20,02–1995,86; $p < 0,001$).

Выводы. Таким образом, анализ мутационной изменчивости гена *TP53* и эпигенетической изменчивости генов *RUNX3* и *TBX4* позволяет выделить группу пациентов с высоким риском прогрессирования заболевания, для которых рекомендуется выполнение ранней цистэктомии.

Гиперметилированные гены микроРНК в злокачественных опухолях яичников

Е.А. Филиппова¹, В.И. Логинов¹, А.М. Бурденный¹,
И.В. Пронина^{1,2}, А.В. Карпунин², Т.П. Казубская³,
Н.Е. Кушлинский³, Э.А. Брага^{1,2}

¹ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», Москва;

²ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва;

³ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Метилирование промоторных CpG-островков генов микроРНК наблюдается чаще, чем метилирование белоккодирующих генов, и принципиально влияет на регуляцию экспрессии как самих генов микроРНК, так и их генов-мишеней, и процессов, в которых они участвуют.

Задачи исследования. Определить частоты метилирования генов микроРНК при раке яичников, идентифицировать новые гиперметилированные при раке яичников гены микроРНК.

Материалы и методы. Изучено метилирование 20 опухолеассоциированных генов микроРНК на представительной выборке парных (опухоль/условная норма) образцов рака яичников (62 случая) методом бисульфитной конверсии ДНК с последующей метил-специфичной полимеразной цепной реакцией. Изучено изменение уровней экспрессии группы гиперметилированных генов микроРНК в 20 образцах рака яичников методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием лицензионных наборов Applied Biosystems (США).

Результаты. Для ряда генов (например *MIR-129-2*, *MIR-193a* и *MIR-125b-1*) изменение уровня метилирования показано впервые. Наибольшая частота (42–58 %) метилирования установлена для генов: *MIR-34b/c*, *MIR-9-1*, *MIR-129-2*, *MIR-124-3*, *MIR-125b-1*, *MIR-193a*. Показана связь гиперметилирования генов микроРНК с понижением их экспрессии и прогрессированием рака.

Выводы. Гены микроРНК, гиперметилированные в опухолях с высокой частотой, можно использовать как диагностические и прогностические маркеры опухолей яичников и перспективное противоопухолевое средство для подавления генов-мишеней с онкогенными свойствами.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 14-15-00654).

Исследование экзосомальных микроРНК в плазме крови у пациентов с меланомой, в том числе находящихся в стойкой ремиссии

Д.К. Чебанов¹, А.А. Абрамов², И.Н. Михайлова³

¹Медицинский институт ФГАОУ ВО

«Российский университет дружбы народов», Москва;

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва;

³ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Экзосомы – частицы размером 30–100 нм, состоящие из билипидной оболочки и содержащие матричную РНК, микроРНК и белки, которые выполняют, таким образом, функции информационного межклеточного взаимодействия с плазматическими мембранами других клеток. При онкологическом заболевании имеет место значительное увеличение количества экзосом в крови. Поэтому микроРНК, переносимые экзосомами, могут оказаться значительно более специфичными применительно к исследованию закономерностей онкологических заболеваний. Из литературы были подобраны следующие 10 микроРНК: let-7a, let-7b, miR-19a, -106a, -149, -155, -199a, -214, -221 и -222, специфичные для меланом.

Задачи исследования. Поиск эпигенетических маркеров, предназначенных для раннего выявления меланомы, определения риска инвазии, мониторинга эффекта проводимой терапии в целях подбора оптимальной схемы лечения. Исследовали профили микроРНК, содержащихся в экзосомах, выделенных из плазмы крови. В работу взяли 25 образцов крови: 13 – от пациентов с меланомой, 12 – от больных, у которых в результате проводимого лечения исчезли признаки заболевания, что подтверждается в течение периода наблюдения 5–15 лет.

Материалы и методы. Кровь брали в объеме 1 мл в пробирку с ЭДТА, и проводили центрифугирование

при 5000 оборотах в течение 5 мин на центрифуге Eppendorf MiniSpin. Выделение экзосом из плазмы проводили по стандартному протоколу на наборе miRCURY Exosome Isolation Kit – Serum and Plasma, выделяли микроРНК на наборе miRCURY RNA Isolation Kit – Biofluids, выделенную тотальную микроРНК сразу же подвергали обратной транскрипции на наборе Universal cDNA Synthesis Kit II. Полученный материал замораживали до температуры -20°C или брали для проведения полимеразной цепной реакции в реальном времени на наборе ExiLent SYBR Green Master Mix Kit с праймерами на специфические микроРНК.

Результаты. Обнаружены значимые различия уровней микроРНК let-7a, let-7b, miR-106a и -199a в 2 сравниваемых группах. Средние значения уровней микроРНК для больных были 323, 873, 750 и 84 тыс. копий/мкл соответственно, для выздоровевших – 422, 1544, 1176 и 14 тыс. копий/мкл соответственно.

Выводы. Суммарный показатель по 4 микроРНК позволяет дифференцировать пациентов с меланомой от выздоровевших с 70 % чувствительностью и 90 % специфичностью, что может быть использовано для оценки эффективности лечения.

Молекулярно-генетические нарушения генов MAP-киназного каскада и ангиогенез немелкоклеточного рака легкого

А.Н. Щаюк¹, М.Н. Шепетько², Э.В. Крупнова¹,
Е.П. Михаленко¹, Н.В. Чеботарёва¹

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск;

²УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск

Введение. Важным процессом при развитии любых злокачественных новообразований, в том числе немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), является ангиогенез. Ключевую роль в регуляции ангиогенеза НМРЛ играют мутации в генах, кодирующих основные компоненты тирозинкиназных путей (EGFR, KRAS), полиморфизмы генов фактора роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF) и его рецептора VEGFR-2 (KDR), а также матриксных металло-

протеиназ (MMP2, MMP9). Поэтому целью данного исследования стало выявление ассоциаций мутаций генов *EGFR*, *KRAS* и полиморфизмов генов *VEGF*, *KDR*, *MMP2*, *MMP9* с размером первичной опухоли, регионарным метастазированием и стадией заболевания.

Материалы и методы. В исследование были включены 220 пациентов с диагнозом плоскоклеточного рака легкого (ПКРЛ) ($n = 124$) и аденокарциномы (АК) ($n = 96$). Исследованы мутации экзонов 19 и 21 гена *EGFR*, экзона 2 гена *KRAS* и полиморфизмы генов *VEGF* (rs699947, rs2010963, rs3025039), *KDR* (rs1870377), *MMP2* (rs2285053, rs243866), *MMP9* (rs17576). Статистическую обработку материала проводили с использованием онлайн-программы SNPStats.

Результаты. Размер первичной опухоли и агрессивность течения НМРЛ зависят от конкретного полиморфного варианта гена *VEGF* (rs699947) и пола пациента. Среди женщин генотип -634GC гена *VEGF* (rs2010963) в 6 раз достоверно чаще встречается у пациенток с АК, чем с ПКРЛ.

Влияние полиморфизма rs1870377 гена *KDR* на развитие НМРЛ не выявлено, но при рассмотрении этого полиморфизма в комбинации с полиморфными вариантами гена *VEGF* было показано, что комбинация генотипов -2578CAVEGF/1719TTKDR достоверно чаще встречается у пациентов с меньшим размером первичной опухоли (относительный риск (ОР) 0,32; 95 % доверительный интервал (ДИ) 0,16–0,63; $p = 0,0015$), а комбинация -2578CAVEGF/1719TAKDR достоверно в 3 раза чаще встречается у пациентов с ПКРЛ, чем с АК (отношение шансов (odds ratio, OR) 3,49; 95 % ДИ 1,13–10,74; $p = 0,039$).

В развитии АК важную роль играет сигнальный путь RAS/RAF/MAPK. У 22,4 % пациентов с АК данный путь гиперактивирован вследствие мутаций в экзонах 19 и 21 гена *EGFR* или в экзоне 2 гена *KRAS*, при этом мутации гена *EGFR* выявлены только у женщин, а мутации гена *KRAS* – только у мужчин.

Анализ ассоциации полиморфных вариантов гена *MMP2* (rs243866) со стадией заболевания показал, что у носителей генотипа -1575GG достоверно реже наблюдается IV стадия (ОР 0,23; 95 % ДИ 0,07–0,83; $p = 0,039$), а аллель А достоверно чаще встречается у пациентов со II (ОР 2,28; 95 % ДИ 1,03–5,03; $p = 0,04$) и IV (ОР 4,27; 95 % ДИ 1,21–15,12; $p = 0,018$) стадиями.

Тезисы

Популяционные особенности аденокарциномы легкого. Начальный этап исследования

А.Н. Абдихакимов, Е.А. Ли, А.А. Холиков, У.К. Косимов
Ташкентский областной онкологический диспансер, Ташкент

Введение. По данным российских исследований, аденокарцинома легкого встречается у 30–35 % европейского населения и у 70–75 % азиатского. Среди гистологических форм немелкоклеточного рака легкого в Республике Узбекистан лидирует плоскоклеточный рак, что несомненно связано с курением. В последние годы отмечается постепенное увеличение числа случаев аденокарциномы (до 1999 г. на 10 случаев плоскоклеточного рака приходился 1 случай аденокарциномы, к 2015 г. — 3 случая). Новые случаи аденокарциномы легких наблюдаются среди женщин.

Задачи исследования. Изучение генетических характеристик аденокарциномы легкого регионов Республики Узбекистан.

Материалы и методы. За основу были взяты следующие критерии: пол, возраст, расовая принадлежность, стадия заболевания на момент обращения больного к врачу-онкологу, метод лечебного воздействия, связь с курением, условия проживания. В период с 2010 по 2015 г. удалось собрать базу данных на 100 пациентов.

Результаты. При применении различных схем химиотерапии на больных аденокарциномой легких III–IV стадии при использовании схемы доцетаксел + карбоплатин получен более высокий ответ на лечение, а также увеличение показателя общей выживаемости.

Выводы. Полученные результаты начального этапа популяционного исследования аденокарциномы легкого показали клиническую агрессивность этой разновидности немелкоклеточного рака легкого. Основная часть больных при первичном обращении имеют запущенную или распространенную стадию заболевания. Шансы на выживаемость у этих больных очень низкие. Ответ на стандартную химиотерапию оставляет желать лучшего. Возможно, для повышения выживаемости необходимо в будущем проведение более глубоких молекулярно-генетических исследований с последующим применением «целевых» лекарственных препаратов.

Поиск ассоциации полиморфных локусов *XRCC1*, *XPA*, *XPB*, *VCAM1*, *PECAM1*, *ICAM1* с риском развития мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря

С.М. Измайлова

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа

Введение. Значительную роль в патогенезе злокачественных новообразований играют специфические факторы роста клеток и гены системы репарации ДНК.

Задачи исследования. Провести анализ ассоциации полиморфных локусов генов *XRCC1* (rs25489 и rs25487), *XPA* (rs1800975), *XPB* (rs13181), *VCAM1* (rs3917010), *PECAM1* (rs281865545), *ICAM1* (rs5498) с риском развития мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря (МНРМП).

Материалы и методы. Проведен молекулярно-генетический анализ образцов ДНК, выделенной из лимфоцитов периферической венозной крови 128 больных МНРМП. Контрольную группу составили 286 человек без хронических заболеваний мочеполовой системы в анамнезе. Полиморфные локусы генов анализировали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с полиморфизмом длины рестрикционных фрагментов и аллель-специфичной ПЦР. Математическую обработку результатов исследования проводили с использованием пакетов статистических программ SNPStats.

Результаты. При анализе выборки больных МНРМП была показана ассоциация rs3917010 гена *VCAM1* с риском развития опухоли в модели сверхдоминирования (отношение шансов (odds ratio, OR) 1,72; $p = 0,04$). Выявлена ассоциация с МНРМП (OR 2,91; $p < 0,0001$) в доминантной модели локуса rs5498 гена *ICAM1*. Полиморфизм rs25489 гена *XRCC1* вносит вклад в развитие МНРМП, статистически значимые результаты были получены для аддитивной модели (OR 2,01; 95 % доверительный интервал 1,29–3,13; $p = 0,0024$).

Статистически значимых ассоциаций развития МНРМП с полиморфными локусами генов *PECAM1* (rs281865545), *XRCC1* (rs25487), *XPA* (rs1800975), *XPB* (rs13181) не выявлено.

Выводы. Таким образом, можно предположить, что присутствие выявленных полиморфных маркеров повышает риск развития МНРМП.

Генетические аспекты прогнозирования течения почечно-клеточного рака

М.И. Коган¹, З.М. Ахохов¹, А.А. Гусев¹, Д.Г. Пасечник²

¹Кафедра урологии и репродуктивного здоровья человека с курсом детской урологии-андрологии ФПК и ППС ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет», Ростов-на-Дону;

²отделение патологической анатомии ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону

Введение. Артериальная гипертензия — один из факторов риска развития рака почки (РП). Кроме этого, способствуя прогрессированию хронической болезни почек, артериальная гипертензия снижает общую выживаемость у больных. Гуморальные факторы (ренин-ангиотензин-альдостероновая система (РААС), оксид азота (NO)), участвующие в регуляции артериального давления, также могут влиять на ряд ключевых свойств опухоли (пролиферация, ангиогенез, инвазия), обеспечивая ее прогрессию.

Задачи исследования. Определение эффектов однонуклеотидных полиморфизмов (single-nucleotide polymorphism, SNP) в 9 генах, участвующих в регуляции сосудистого тонуса и артериального давления, на развитие и клинко-патологические особенности РП.

Материалы и методы. Из образцов крови 97 пациентов, перенесших нефрэктомия по поводу РП, была выделена ДНК с последующей идентификацией SNPs rs699 и rs4762 в гене *AGT*, rs5186 в гене *AGTR1*, rs1403543 в гене *AGTR2*, rs179998 в гене *CYP11B2*, rs4961 в гене *ADD1*, rs5443 в гене *GNB3*, rs1799983 и rs2070744 в гене *NOS3* методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. В качестве контроля частоты распространения вариантов аллелей в популяции использовали global minor allele frequency (MAF) из базы проекта HapMap. Оценку значимости различий проводили с помощью отношения шансов (odds ratio, OR), χ^2 -Пирсона, при количестве наблюдений < 5 — точного критерия Фишера.

Результаты. Установлено, что у больных РП чаще выявлялись SNPs AGT_rs699, AGTR1_rs5186, NOS3_rs1799983. Значимая связь между РП в сочетании с артериальной гипертензией отмечена при AGTR1_rs5186 ($p = 0,026$), GNB3_rs5443 ($p = 0,04$) и NOS3_rs2070744 ($p = 0,019$). Отмечены ассоциации между степенью дифференцировки и SNP AGTR2_rs1403543 ($p = 0,041$), наличием очагов коагуляционного некроза и саркоматоидной трансформации и SNP AGTR2_rs1403543 ($p = 0,014$), AGT_rs699 ($p = 0,041$). Метастатические формы РП ассоциировались с GNB3_rs5443 ($p = 0,03$). Наиболее часто (70,6 %) у пациентов с РП встречалось сочетание от 4 до 6 SNP. При анализе сочетаний SNPs обнаружено, что при метастатическом РП и у пациен-

тов с показателями скорости клубочковой фильтрации < 90 мл/мин/1,73 м² чаще встречались комбинации AGTR1_rs5186 и ADD1_rs4961 (OR 5,00; 95 % доверительный интервал (ДИ) 4,22–5,78; $p = 0,04$ и OR 5,64; 95 % ДИ 4,78–6,59; $p = 0,046$ соответственно), GNB3_rs5443 и AGTR2_rs1403543 (OR 5,02; 95 % ДИ 4,43–5,62; $p = 0,007$ и OR 7,4; 95 % ДИ 6,55–8,25; $p = 0,022$ соответственно).

Выводы. Наши результаты подтверждают, что компоненты РААС и NO могут влиять на развитие и прогрессирование РП. Выявление SNP генов, участвующих в регуляции артериального давления, может использоваться в оценке прогноза течения РП и рисков развития и прогрессирования хронической болезни почек у этой категории больных.

Полиморфизмы генов *TNF-238G>A* и *HER2* Ile655Val повышают риск заболевания раком молочной железы

Т.Ф. Маливанова, Н.Н. Мазуренко

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

Введение. В канцерогенезе эпителия молочной железы важную роль играют воспаление, гормональные и ростовые факторы. Фактор некроза опухоли (tumor necrosis factor, TNF), воспалительный медиатор иммунного ответа, также способен индуцировать как апоптоз, так и пролиферацию опухолевых клеток. К факторам, вызывающим пролиферацию, относят рецепторы эстрогенов и HER2, экспрессионный профиль которых лежит в основе молекулярной классификации рака молочной железы (РМЖ). Гены *TNF*, *ESR1* и *HER2* имеют сайты однонуклеотидных замен, приводящих к функциональному изменению уровня транскрипции или активности их белковых продуктов. Эти гены являются низкопенетрантными, и до сих пор не вполне понятно, каким образом они влияют на предрасположенность к РМЖ.

Задачи исследования. Оценка влияния функциональных полиморфизмов генов *TNF*, *HER2* и *ESR1* на риск развития РМЖ.

Материалы и методы. Исследовали геномную ДНК от 166 первичных больных РМЖ и 134 женщин контрольной группы. Методами сайт-специфической полимеразной цепной реакции (ПЦР) и ПЦР с рестрикцией амплифицированного фрагмента определяли полиморфизмы генов *TNF-238G>A* и -308G>A, *HER2* Ile655Val и *ESR1* 397C>T. Для оценки риска РМЖ рассчитывали отношение шансов (odds ratio, OR [99 % доверительный интервал (ДИ)]).

Результаты. В общей группе не выявлено индивидуального влияния изученных полиморфизмов на риск

развития РМЖ (для -238*TNF* OR = 0,68 [0,29; 1,62]; для -308*TNF* OR = 1,23 [0,84; 1,81]; для Пe655Val *HER2* OR = 1,29 [0,79; 2,11]; для 397*ESR1* OR = 1,94 [0,89; 4,26]). При анализе комбинированного действия полиморфизмов было обнаружено, что для носителей аллеля А -238*TNF* полиморфизм *HER2* Пe655Val значительно увеличивал риск развития РМЖ ($p < 0,01$; OR = 6,44 [1,15; 36,04]). Следует отметить, что в исследованной группе больных РМЖ полиморфизм *TNF*-238G>А ассоциировался с низким уровнем *TNF* в сыворотке крови. Для комбинации полиморфизмов *TNF*-308G>А и *ESR1* 397C>Т отмечена тенденция к повышению риска развития РМЖ (OR = 2,5 [0,99; 6,33]), что требует дальнейшего изучения.

Выводы. Впервые обнаружено комбинированное действие *TNF*-238G>А и *HER2* Пe655Val на риск развития РМЖ. По-видимому, полиморфизмы гена *TNF* способны создавать определенный физиологический контекст, в условиях которого функциональные полиморфизмы других генов могут проявлять свой канцерогенный потенциал.

Экспрессия генов, ответственных за индукцию внешнего пути апоптоза, в клетках крови больных хроническим лимфоидным лейкозом

В.А. Мисюрин¹, С.Г. Захаров², Т.А. Митина²,
Е.В. Катаева², Ю.П. Финашутин¹, Л.А. Кесаева¹,
Н.А. Лыжко¹, Ю.П. Финашутин¹, В.В. Тихонова¹,
А.К. Голенков², А.В. Мисюрин¹

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

²ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва

Введение. Самым известным лекарственным моноклональным антителом для терапии хронического лимфоидного лейкоза (ХЛЛ) является ритуксимаб. Часто его применяют совместно с другими химиопрепаратами. Мы предполагаем, что для успешной терапии данного заболевания к известной комбинации ритуксимаб + химиопрепараты можно добавить терапевтические антитела-агонисты основных рецепторов внешнего пути апоптоза.

Задачи исследования. Сравнение уровней экспрессии генов внешнего пути апоптоза *DR3*, *DR4/5*, *FAS*, *TNFR2* и *TRAIL* у больных В-клеточным ХЛЛ до начала лечения и во время проведения терапии по схеме ритуксимаб + химиопрепараты.

Материалы и методы. В исследовании принимали участие 33 пациента (28 мужчин, 5 женщин). Медиана возраста составила 60 лет. Пациенты с первично выявленной формой В-клеточным ХЛЛ получали курсы полихимиотерапии RFC (ритуксимаб + флударабин + циклофосфамид), пациенты с резистентной и реци-

дивной формами В-клеточного ХЛЛ – RB (ритуксимаб + бендамустин). Уровни экспрессии основных проапоптотических генов *DR3*, *DR4/5*, *FAS*, *TNFR2* и *TRAIL* определяли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Количественную оценку экспрессии проводили относительно экспрессии гена *ABL*. Анализ данных выполняли в программе Statistica 10. Для исследования динамики экспрессии генов применяли кокс-регрессионный анализ.

Результаты. Уровень экспрессии генов внешнего пути апоптоза не зависел от стадии заболевания. Медиана уровня экспрессии генов у пациентов всех групп в начале заболевания составляла для *DR3* – 25 %, *DR4/5* – 246 %, *FAS* – 746 %, *TNFR2* – 1020 % и *TRAIL* – 1020 %. Вне зависимости от проводимого курса химиотерапии в целом происходило повышение уровня экспрессии генов до следующих значений медианы: *DR3* – 27 %, *DR4/5* – 258 %, *FAS* – 801 %, *TNFR2* – 984 % и *TRAIL* – 1056 %.

Выводы. Наши результаты свидетельствуют о том, что применение моноклональных антител-агонистов рецепторов внешнего пути апоптоза при В-клеточного ХЛЛ возможно, так как уровень экспрессии генов, кодирующих эти рецепторы, во время проведения химиотерапии увеличивается.

Сравнительный анализ эпигенетических нарушений генов *AURKA* и *TP53* у больных солитарным раком желудка и пациентов с первично-множественными злокачественными образованиями

Г.Ф. Михайлова, В.В. Цепенко, Т.Г. Шкаврова,
Г.О. Рухадзе, В.Ю. Скоропад

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ НМИРЦ Минздрава России, Обнинск

Введение. Репликация ДНК является жестко регулируемым процессом, синхронизированным для большей части гомологичных локусов в геноме. В нормальных клетках этот процесс очень стабилен, в то время как опухолевые клетки характеризуются асинхронной репликацией тех локусов, которые в нормальном состоянии реплицируются синхронно. Это, в свою очередь, приводит к дестабилизации генома и нарушению экспрессии генов. Отметим, что в случае солидных опухолей нарушение синхронности репликации может наблюдаться не только в клетках опухолевой ткани, но и в нормальных клетках, например в лимфоцитах периферической крови.

Задачи исследования. Сравнительный анализ частоты лимфоцитов с асинхронной репликацией генов *AURKA* и *TP53* у больных солитарным раком желудка

(СРЖ) и пациентов с первично-множественными злокачественными образованиями (ПМЗО).

Материалы и методы. Работу проводили на образцах ФГА-стимулированных лимфоцитов периферической крови методом интерфазной флуоресцентной *in situ* гибридизации (I-FISH). Группа с ПМЗО была сформирована из больных, имевших в анамнезе вторые опухоли наряду с раком желудка. В группах больных СРЖ и пациентов с ПМЗО были обследованы по 19 лиц соответственно. В контрольную группу ($n = 10$) вошли здоровые доноры, не имеющие опухолевой патологии. В работе использовали коммерческие молекулярные ДНК-зонды для генов *AURKA* и *TP53* (Vysis, США и Kreatech Diagnostic, Нидерланды).

Результаты. Частота встречаемости лимфоцитов с асинхронной репликацией (ЛАР) в контрольной группе составила $18,0 \pm 1,0$ % для гена *AURKA* и $15,6 \pm 0,9$ % для гена *TP53*. В группе больных СРЖ частота ЛАР составила $29,3 \pm 1,7$ % для гена *AURKA* и $27,8 \pm 1,6$ % для гена *TP53*, в группе больных с ПМЗО — $40,0 \pm 1,1$ и $32,2 \pm 1,1$ % для генов *AURKA* и *TP53* соответственно. Установлено, что группы пациентов с СРЖ и ПМЗО имели достоверно повышенный уровень ЛАР по сравнению с контрольной группой ($p < 0,01$) по обоим исследованным генам. Кроме этого, наблюдались достоверные различия по частоте ЛАР по обоим генам между группами СРЖ и ПМЗО. Группа больных с ПМЗО имела более высокую частоту ЛАР по сравнению с группой больных СРЖ ($p < 0,05$).

Выводы. Таким образом, можно предположить о том, что увеличение частоты ЛАР у онкологических больных по сравнению с группой контроля свидетельствует о повышенной геномной нестабильности, а более высокая частота ЛАР в группе пациентов с ПМЗО по сравнению с больными СРЖ может быть показателем и возможным предиктором второй опухоли.

Типы мутаций гена *BRCA1* как фактор развития рака молочной железы у женщин репродуктивного возраста

Т.Т. Мукаддас

Ташкентский областной онкологический диспансер,
Ташкент

Введение. Рак молочной железы (РМЖ) является на сегодняшний день одним из наиболее часто встречающихся злокачественных новообразований у женщин, занимая 1-е место в структуре онкологической заболеваемости Республики Узбекистан.

Задачи исследования. Изучение риска развития РМЖ при генетических мутациях генов *BRCA1* или *BRCA2* у женщин узбекской популяции. Определение вклада и места мутаций генов *BRCA1* или *BRCA2* в развитии ранних и семейных форм РМЖ в Республике Узбекистан.

Материалы и методы. В нашем исследовании принимали участие 100 женщин с гистологически верифицированным РМЖ. Из них 59 женщин репродуктивного возраста, которым с помощью аллель-специфической полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием SYBR Green I проводили анализ ДНК крови. Все пациентки имели раннюю, семейную либо первично-множественную форму РМЖ с наличием мутаций 5382Ins_C, 4153del_A, 185del_AG в гене *BRCA1*, а также 6174del_T в гене *BRCA2*.

Результаты. Из 59 пациенток 3 (5,08 %) оказались носителями гетерозиготной мутации 5382Ins_C. Представленные данные подтверждают вклад мутации 5382Ins_C гена *BRCA1* в развитии РМЖ у женщин узбекской популяции.

Выводы. С учетом высокого риска заболевания РМЖ у носительниц мутации гена *BRCA1* является целесообразным включение тестирования мутации 5382Ins_C в скрининговые программы по выявлению ранних форм и профилактики РМЖ в Республике Узбекистан.

Характеристика соматических генетических изменений аденокарциномы легкого в процессе ее прогрессии от стадии *in situ* до инвазивного рака

А.Ф. Мукерия, В.А. Драудин-Крыленко, М.В. Гаас,
Н.Д. Плытник, Д.Г. Заридзе

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

Изучение различных соматических генетических изменений и клональной эволюции в зависимости от степени злокачественности опухоли, как возможных маркеров степени ее прогрессии, проводилось на основании полноэкзомного секвенирования 19 парных образцов (ткань + кровь), полученных от пациентов с диагнозом бронхоальвеолярного рака, находившихся на лечении в нескольких крупных московских клиниках. Согласно новой международной классификации аденокарцином легкого, разработанной в 2011 г. (IASLC/ATS/ERS, 2011), аденокарцинома, ранее определяемая как бронхоальвеолярный рак, в настоящее время подразделяется на: преинвазивную аденокарциному *in situ*, минимально инвазивную аденокарциному, инвазивную немущинозную аденокарциному и инвазивную муцинозную аденокарциному. С учетом данной классификации был выявлен ряд новых соматических мутаций, ранее не указанных в Атласе генома злокачественных опухолей (The cancer genome atlas, TCGA). Отмечена более высокая частота встречаемости опухолей с мутацией, вызванной активностью белков APOBEC (73 % против 58 % TCGA), в то время как му-

тации KRAS в исследованных образцах встречались гораздо реже по сравнению с данными TCGA (5 % против 32 % TCGA), а частота мутаций сплайсинговых РНК генов, RBM10 и U2AF1, была гораздо выше, чем в TCGA (37 % против 11 % TCGA). Каких-либо мутагенных или соматических признаков, специфичных для аденокарциномы *in situ* и минимально инвазивной аденокарциномы, не обнаружено. Инвазивные типы аденокарцином отличаются от *in situ* и минимально инвазивного типа только частотой клонов и их разнообразием. Таким образом, единственным отличием между инвазивными типами аденокарцином и *in situ* и минимально инвазивными опухолями является клонная эволюция, т. е. более высокая частота клонов и их высокая вариабельность. Огромное разнообразие субклонов свидетельствует об активации процессов клональной эволюции в процессе прогрессии опухоли. В дальнейшем необходимо более подробно изучить различные клональные варианты опухоли на разных стадиях ее прогрессии. Эта информация может лечь в основу разработки прогностических маркеров, а впоследствии и выбора индивидуализированной терапии.

Анализ ассоциации метилирования генов APC, MLH1 и RASSF1A с риском развития колоректального рака

А.В. Перфильева¹, К.Б. Джантаева¹, О.А. Иксан¹,
С.А. Касимуратова¹, Е.Б. Кузовлева¹, Г.С. Жунусовна¹,
Э.М. Хусаинова¹, Б.О. Бекманов¹, Г.А. Афонин²,
Л.Б. Джансугова¹

¹Институт общей генетики и цитологии КН МОН РК, Алматы;

²Казахский национальный медицинский университет
им. С.Д. Асфендиярова, Алматинский онкологический центр,
Алматы

Введение. В Республике Казахстан колоректальный рак (КРР) занимает 4-е место в структуре заболеваемости среди всех онкопатологий и 3-е место в структуре смертности. Важнейшим условием успешного лечения КРР является обнаружение опухолевого процесса на ранних стадиях. Диагностическое и прогностическое значение в решении этой проблемы может иметь эпигенетическое метилирование ключевых генов колоректального канцерогенеза.

Задачи исследования. Изучение ассоциации статуса метилирования генов APC, MLH1 и участвующих в регуляции клеточного цикла и апоптозе клеток с риском развития КРР.

Материалы и методы. Всего для исследования было собрано 50 образцов опухолевой ткани больных спорадическим КРР, из них у 16 пациентов одновременно с биопсией опухолевой ткани взяты образцы периферической непораженной ткани кишечника и у 26 — периферическая кровь. Для контрольной группы были отобраны образцы периферической крови

30 условно здоровых лиц. ДНК из клинического материала выделяли методом фенол-хлороформной экстракции. Для определения метилирования промоторной области генов был использован метод метилчувствительной и метилспецифичной полимеразной цепной реакции.

Результаты. Частота метилирования промотора 1A генов APC и RASSF1A в образцах опухолевых тканей больных КРР составила 4 и 10 % соответственно. В образцах непораженных тканей кишечника от онкологических больных, в периферической крови от онкологических больных и от условно здоровых лиц контрольной группы метилирование данных генов не обнаружено. Частота метилирования гена MLH1 в образцах опухолевой ткани больных КРР составила 30,0 %, в образцах гистологически нормальной периферической ткани кишки — 12,5 %, в периферической крови больных КРР — 4,0 %.

Выводы. Диагностические характеристики теста на метилирование промоторной последовательности генов APC и RASSF1A в ткани кишечника для выявления КРР следующие: чувствительность — 4 и 10 % соответственно, специфичность — 100 % для обоих генов. Чувствительность теста на метилирование промоторной последовательности гена MLH1 в ткани кишечника и периферической крови для диагностики КРР составила 30,00 и 3,85 %, специфичность — 87,5 и 100 % соответственно. Предварительные результаты говорят о высокой специфичности тестов на метилирование генов APC и RASSF1A в ткани кишечника, гена MLH1 — в ткани кишечника и периферической крови для диагностики КРР. Предполагается дальнейший сбор клинического материала и увеличение объема выборок для продолжения исследования роли эпигенетических нарушений данных генов в развитии КРР.

Гиперметилированные гены микроРНК и их новые потенциальные мишени при раке молочной железы

И.В. Пронина^{1,2}, А.М. Бурденный¹, В.И. Логинов¹,
Е.А. Филиппова¹, Т.П. Казубская³, Н.Е. Кушлинский³,
А.В. Карпухин², Э.А. Брага^{1,2}

¹ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии»,
Москва;

²ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва;

³ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Введение. Метилирование промоторных CpG-островков и взаимодействие микроРНК с матричной РНК (мРНК) относятся к важнейшим эпигенетическим механизмам регуляции генов и сигнальных путей в опухолях.

Задачи исследования. Анализ роли метилирования в регуляции экспрессии 13 генов микроРНК (MIR-124-1, -125b-1, -127, -132, -137, -148a, -191, -193a, -203, -212, -34b, -75, -9-3) и поиск их новых мишеней.

Материалы и методы. Применены методы полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени и метил-специфичная ПЦР. Использована выборка из 58 парных образцов рака молочной железы (РМЖ).

Результаты. Впервые показана высокая частота гиперметилирования 5 генов микроРНК *MIR-124-1*, *-125b-1*, *-127*, *-132*, *-193a* и гипометилирование *MIR-191* при РМЖ. Для 12 генов микроРНК (за исключением *MIR-212*) выявлена значимая корреляция уровней экспрессии и метилирования. В целях изучения новых функций микроРНК проведен корреляционный анализ между уровнями экспрессии 13 микроРНК и 5 опухолеассоциированных генов (*RASSF1(A)*, *CHL1*, *APAF1*, *DAPK1*, *BCL2*), которые были предсказаны в качестве мишеней с помощью алгоритмов miRWalk 2.0. Значимая отрицательная корреляция показана для следующих пар микроРНК—мРНК: miR-127-5p и *DAPK1*, miR-375 и *RASSF1(A)*, miR-124-3p и *BCL2*. Кроме этого, впервые показана ассоциация гиперметилирования генов *MIR-127* и *MIR-125b-1* с прогрессией РМЖ, включая метастазирование.

Выводы. Таким образом, наши результаты установили значение метилирования в дерегуляции 12 генов микроРНК при РМЖ, позволили предположить новые функциональные пары микроРНК—мРНК и гиперметилирование генов *MIR-127* и *MIR-125b-1* в качестве потенциальных биомаркеров метастазирования РМЖ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 14-15-00654).

Влияние чувствительности к андрогену на профили экспрессии микроРНК в клетках рака предстательной железы

Д.А. Чеботарев, М.Г. Тютякина

ФГБУН «Институт аридных зон Южного научного центра РАН», Ростов-на-Дону

Введение. Рак предстательной железы остается одним из самых распространенных типов онкологических заболеваний в мире. Снижение уровня андрогенов на ранних стадиях развития опухоли приводит к по-

давлению роста и развития простатных клеток, в том числе и опухолевых. К сожалению, часто в раковых клетках повышается активность и нарушается специфичность андрогенового рецептора, что приводит к выходу клеточных линий из-под гормонального контроля и обеспечивает прогрессию заболевания.

Задачи исследования. Для определения взаимосвязи регулирования жизнедеятельности простатных клеток на гормональном уровне и на уровне регуляции экспрессии посредством микроРНК был проведен анализ различий профилей экспрессии микроРНК в клетках гормоночувствительной (LNCaP) и гормононезависимой (DU-145) линий рака предстательной железы.

Материалы и методы. Культивирование клеток с последующим определением профилей экспрессии микроРНК выполняли дважды, с интервалом 1 год. При культивировании гормональное стимулирование не проводили, и в клетках гормоночувствительной линии регуляторная активность андрогенового рецептора была сильно снижена, в то время как в клетках гормононезависимой линии его активность оставалась высокой. Сравнение уровней экспрессии проводили в программе EdgeR.

Результаты. Из 326 проанализированных зрелых микроРНК 44 продемонстрировали повышенную экспрессию в клетках DU-145, а 21 — в клетках LNCaP.

Выводы. В литературе описаны микроРНК, транскрипционно регулируемые андрогеновым рецептором. В нашей работе были выявлены микроРНК с таким типом регуляции экспрессии. Так, в клетках гормононезависимой линии повышена копияность микроРНК miR-21, -29a, -222 и микроРНК кластера miR-23a/27a/24-2, а снижение копияности наблюдается для микроРНК miR-34a, -148a, а также микроРНК кластера 99a/let-7c/125b-2. Однако для таких микроРНК как miR-10a, -34c, -100 не наблюдается описанного в литературе снижения экспрессии, а регистрируется ее увеличение. Вместе с тем отличия в экспрессии отмечены и для микроРНК, влияющих на продукцию и функциональную активность андрогенового рецептора. В нашем сравнении повышенной активности андрогенового рецептора сопутствует снижение экспрессии микроРНК let-7c, miR-34a и -148a и повышение экспрессии микроРНК семейства miR-181.