

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ КАНЦЕРОГЕНЕЗА ФГБУ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ОНКОЛОГИИ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА»  
МИНЗДРАВА РОССИИ

ISSN: 2313-805X (Print)  
ISSN: 2413-3787 (Online)

# УСПЕХИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОНКОЛОГИИ

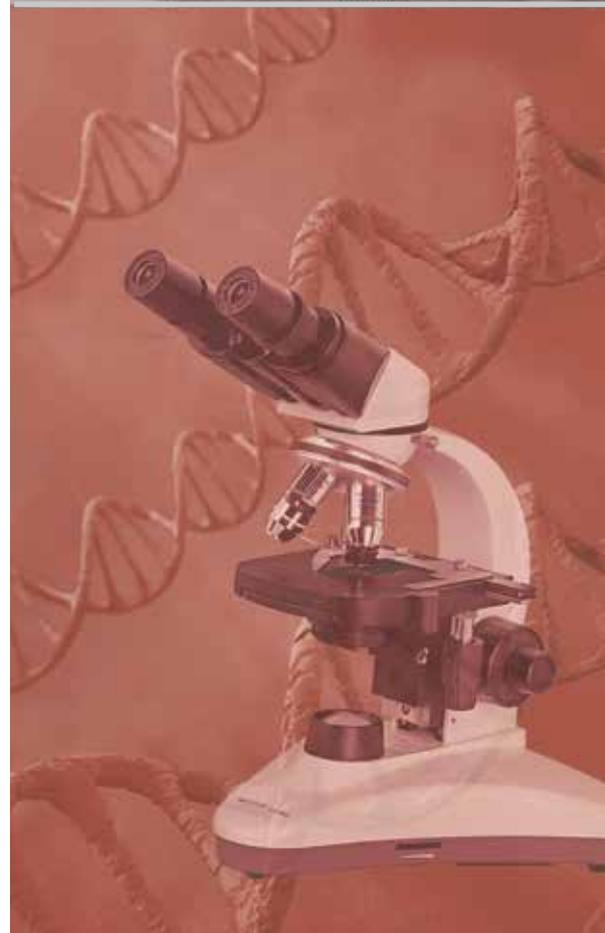
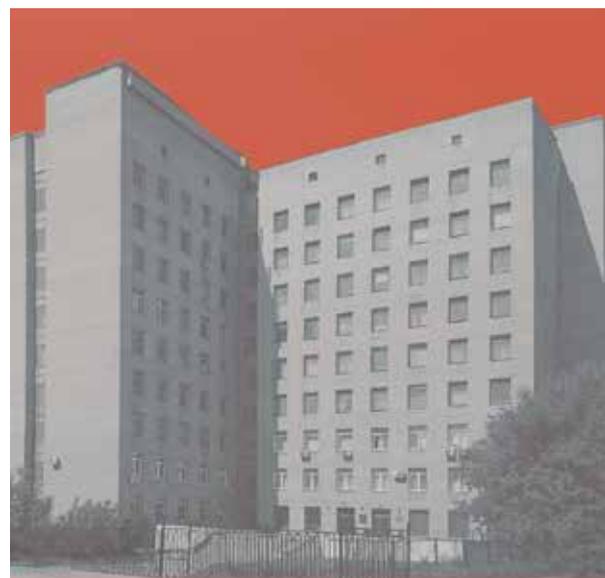
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ  
ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ  
РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ  
ЖУРНАЛ



*МАТЕРИАЛЫ*

*III Всероссийской конференции  
по молекулярной онкологии*

*6–8 декабря 2017 г., Москва*



ТОМ 4 № 4      ПРИЛОЖЕНИЕ  
2017

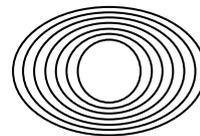
Журнал «Успехи молекулярной онкологии» включен в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов, в которых публикуются основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук.

С 2014 г. журнал включен в Научную электронную библиотеку и Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), имеет импакт-фактор.

С 2015 года журнал зарегистрирован в CrossRef, статьи индексируются с помощью цифрового идентификатора DOI.

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ КАНЦЕРОГЕНЕЗА ФГБУ «НМИЦ ОНКОЛОГИИ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА» МИНЗДРАВА РОССИИ

# УСПЕХИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОНКОЛОГИИ



Федеральное государственное  
бюджетное учреждение  
«Национальный медицинский  
исследовательский центр  
онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России

Онлайн-версия журнала  
доступна по адресу:  
<http://umo.abvpress.ru/jour>

ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

## ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

*Красильников Михаил Александрович, д.б.н., профессор, заместитель директора по научной работе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, директор Научно-исследовательского института канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, заведующий отделом экспериментальной биологии опухолей (Москва, Россия)*

## ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

*Зборовская Ирина Борисовна, к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории регуляции клеточных и вирусных онкогенов НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)*

*Якубовская Марианна Геннадиевна, д.м.н., заведующая отделом химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)*

## ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

*Гудкова Маргарита Владимировна, к.б.н., ученый секретарь НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)*

О С Н О В А Н В 2 0 1 4 Г .

ПРИЛОЖЕНИЕ  
**4** ТОМ 4  
'17

### Учредители:

ФГБУ «НМИЦ онкологии  
им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;  
ООО «ИД «АБВ-пресс»

### Адрес редакции:

115478, Москва, Каширское шоссе, 24,  
стр. 15, НИИ канцерогенеза, 3-й этаж.  
Тел./факс: +7 (499) 929-96-19  
e-mail: [abv@abvpress.ru](mailto:abv@abvpress.ru)  
[www.abvpress.ru](http://www.abvpress.ru)

Статьи направлять по адресу:  
[adv.mol.onc@ronc.ru](mailto:adv.mol.onc@ronc.ru)

*Выпускающий редактор Е. Бабаскина  
Корректор Н. Виленкина  
Дизайн Е. Степанова  
Верстка О. Гончарук  
Служба подписки и распространения  
И.В. Шургаева, +7 (499) 929-96-19,  
[base@abvpress.ru](mailto:base@abvpress.ru)*

*Руководитель проекта  
Р.А. Кузнецов, +7 (499) 929-96-19,  
[kuznetsov@abvpress.ru](mailto:kuznetsov@abvpress.ru)*

*Журнал зарегистрирован  
в Федеральной службе по надзору*

*в сфере связи, информационных  
технологий и массовых коммуникаций  
(ПИ № ФС77-57560 от 08.04.2014 г.)*

**При полной или частичной  
перепечатке материалов ссылка  
на журнал «Успехи молекулярной  
онкологии» обязательна.  
Редакция не несет ответственности  
за содержание публикуемых  
рекламных материалов.  
В статьях представлена точка  
зрения авторов, которая может  
не совпадать с мнением редакции.**

ISSN: 2313-805X (Print)  
ISSN: 2413-3787 (Online)

Успехи молекулярной онкологии.  
2017. Том 4. № 4. Приложение. 1–142

© ООО «ИД «АБВ-пресс», 2017

Подписной индекс в каталоге  
«Пресса России» – 93562

Отпечатано в типографии  
ООО «Медиаколор»  
Тираж 1000 экз.

**РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ**

**Белицкий Геннадий Альтерович**, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории методов скрининга канцерогенов НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

**Берштейн Лев Михайлович**, д.м.н., профессор, руководитель лаборатории онкоэндокринологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

**Боженко Владимир Константинович**, д.м.н., профессор, руководитель лаборатории биохимии отдела патоморфологии и лабораторной диагностики ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России, заслуженный врач РФ (Москва, Россия)

**Глушанкова Наталия Александровна**, д.б.н., заведующая лабораторией механизмов канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

**Гурцевич Владимир Эдуардович**, д.м.н., профессор, заведующий лабораторией вирусного канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, заслуженный деятель науки РФ (Москва, Россия)

**Имянитов Евгений Наумович**, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

**Казанский Дмитрий Борисович**, д.б.н., профессор, заведующий лабораторией механизмов регуляции иммунитета НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

**Карпухин Александр Васильевич**, д.б.н., профессор, руководитель лаборатории молекулярной генетики сложно наследуемых заболеваний ФГБНУ «Медико-генетический научный центр» (Москва, Россия)

**Кжышковска Юлия Георгиевна**, д.б.н., профессор, руководитель отдела врожденного иммунитета и толерантности Института трансфузионной медицины и иммунологии медицинского факультета Мангейм университета Гейдельберга (Гейдельберг, Германия)

**Кубасова Ирина Юрьевна**, к.м.н., ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, заведующая отделением научного планирования и подготовки кадров ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

**Кушлинский Николай Евгеньевич**, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией клинической биохимии НИИ клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

**Лазаревич Наталия Леонидовна**, д.б.н., профессор, заведующая лабораторией механизмов прогрессии эпителиальных опухолей НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

**Лихтенштейн Анатолий Владимирович**, д.б.н., заведующий лабораторией биохимии опухолей НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

**Мазуренко Наталья Николаевна**, д.б.н., профессор, заведующая лабораторией онкогеномики НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

**Миркин Сергей Моисеевич**, именной профессор биологии Университета Тафтса (Медфорд, Орегон, США)

**Сергеева Наталья Сергеевна**, д.б.н., профессор, руководитель лаборатории прогноза эффективности консервативного лечения Московского научно-исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (Москва, Россия)

**Степанова Евгения Владиславовна**, д.м.н., заместитель начальника Управления по взаимодействию с РАН, ответственный секретарь Научно-координационного совета Федерального агентства научных организаций России (Москва, Россия)

**Тюляндин Сергей Алексеевич**, д.м.н., профессор, заведующий отделением клинической фармакологии и химиотерапии, заместитель директора по научной работе НИИ клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

**Чевкина Елена Максимовна**, д.б.н., заведующая лабораторией регуляции клеточных и вирусных онкогенов НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

**Чердынцева Надежда Викторовна**, д.б.н., профессор, член-корреспондент РАН, заместитель директора по научной работе, заведующая лабораторией молекулярной онкологии и иммунологии Научно-исследовательского института онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН» (Томск, Россия)

**РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ**

**Гудков Андрей Владимирович**, д.б.н., профессор, старший вице-президент по фундаментальной науке и заведующий отделом биологии клеточного стресса Института онкологии им. Розвелла Парка (Баффало, Нью-Йорк, США)

**Давыдов Михаил Иванович**, д.м.н., профессор, академик РАН, член президиума РАН, директор ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, главный онколог Минздрава России, заслуженный деятель науки РФ (Москва, Россия)

**Заридзе Давид Георгиевич**, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующий отделом эпидемиологии и профилактики опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, заслуженный деятель науки РФ (Москва, Россия)

**Копнин Борис Павлович**, д.б.н., профессор, главный научный сотрудник НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

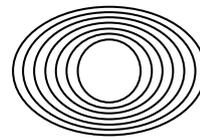
The journal "Advances in Molecular Oncology" is put on the Higher Attestation Commission list of periodicals (the list of leading peer-reviewed scientific journals recommended to publish the basic research results of doctor's and candidate's theses).

Since 2014, the journal was included in the Research Electronic Library and the Russian Science Citation Index (RSCI) and has an impact factor.

In 2015, the journal has been registered with CrossRef; its papers are indexed with the digital object identifier (DOI).

RESEARCH INSTITUTE OF CARCINOGENESIS, N.N. BLOKHIN NATIONAL MEDICAL RESEARCH CENTER OF ONCOLOGY, MINISTRY OF HEALTH OF RUSSIA

# ADVANCES in MOLECULAR ONCOLOGY



**N.N. Blokhin National Medical  
Research Center of Oncology,  
Ministry of Health of Russia**

Online version of the journal  
is available at:  
<http://umo.abvpress.ru/jour>

QUARTERLY PEER-REVIEWED SCIENTIFIC-AND-PRACTICAL JOURNAL

## EDITOR-IN-CHIEF

**Krasil'nikov Mikhail A.**, PhD, DSc, Professor, Deputy Director for Research Work of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Director of the Research Institute of Carcinogenesis, Head of Department of Experimental Biology of Tumors (Moscow, Russia)

## DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF

**Zborovskaya Irina B.**, PhD, Leading Researcher of the Laboratory of Regulation of Cell and Viral Oncogenes of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

**Yakubovskaya Marianna G.**, PhD, DSc, Head of the Department of Chemical Carcinogenesis of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

## EXECUTIVE EDITOR

**Gudkova Margarita V.**, PhD, Scientific Secretary of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

FOUNDED IN 2014

APPENDIX  
**4** Vol. 4  
'17

**Founders:** N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; PH "ABV-press"

**Editorial Office:**  
Research Institute of Carcinogenesis,  
Floor 3, 24 Build. 15  
Kashirskoe Shosse, Moscow  
Tel./Fax: +7 (499) 929-96-19.  
e-mail: [abv@abvpress.ru](mailto:abv@abvpress.ru)  
[www.abvpress.ru](http://www.abvpress.ru)

Articles should be sent to e-mail:  
[adv.mol.onc@ronc.ru](mailto:adv.mol.onc@ronc.ru)

**Managing editor E. Babaskina**  
**Proofreader N. Vilenkina**  
**Designer E. Stepanova**  
**Maker-up O. Goncharuk**  
Subscription & Distribution Service  
**I.V. Shurgaeva, +7 (499) 929-96-19,**  
[base@abvpress.ru](mailto:base@abvpress.ru)

**Project Manager R.A. Kuznetsov,**  
**+7 (499) 929-96-19,**  
[kuznetsov@abvpress.ru](mailto:kuznetsov@abvpress.ru)

The journal was registered  
at the Federal Service for Surveillance  
of Communications, Information

Technologies, and Mass Media  
(III No. ФС77-57560  
dated 08 April 2014).

If materials are reprinted in whole  
or in part, reference must necessarily  
be made to the journal "Uspekhi  
molekulyarnoy onkologii".

The editorial board is not responsible  
for advertising content.

The authors, point of view given  
in the articles may not coincide with  
the opinion of the editorial board.

ISSN: 2313-805X (Print)  
ISSN: 2413-3787 (Online)

Uspekhi molekulyarnoy  
onkologii. 2017. Vol. 4  
No. 4. Appendix. 1–142

© PH "ABV-Press", 2017

Pressa Rossii catalogue index:  
93562

Printed at Mediacolor LLC

1,000 copies

**EDITORIAL BOARD**

**Belitsky Gennady A.**, *PhD, DSc, Professor, Leading Researcher of the Laboratory of Chemical Carcinogenesis Mechanisms of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)*

**Berstein Lev M.**, *PhD, DSc, Professor, Head of the Laboratory of Oncoendocrinology of the N.N. Petrov National Medical Research Oncology Center of the Ministry of Health of Russia (Saint Petersburg, Russia)*

**Bozhenko Vladimir K.**, *PhD, DSc, Professor, Head of the Laboratory of Biochemistry of the Department of Pathomorphology and the Laboratory Diagnostics of the Russian Radiology Research Center of the Ministry of Health of Russia, Honored Doctor of the Russian Federation (Moscow, Russia)*

**Gloushankova Natalia A.**, *PhD, DSc, Head of the Laboratory of Carcinogenesis Mechanisms of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)*

**Gurtsevitch Vladimir E.**, *PhD, DSc, Professor, Head of the Laboratory of Viral Carcinogenesis of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Honored Scientist of the Russian Federation (Moscow, Russia)*

**Imyanitov Eugeny N.**, *PhD, DSc, Professor, Associate Member of RAS, N.N. Petrov National Medical Research Oncology Center of the Ministry of Health of Russia (Saint Petersburg, Russia)*

**Kazansky Dmitry B.**, *PhD, DSc, Professor, Head of the Laboratory of Immune Regulation Mechanisms of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)*

**Karpukhin Aleksander V.**, *PhD, DSc, Professor, Head of the Laboratory of Molecular Genetics of Complex Inherited Diseases of the Medical Genetic Research Center (Moscow, Russia)*

**Kzhyskovska Juliya G.**, *PhD, DSc, Professor, Head of Department of Innate Immunity and Tolerance, Institute of Transfusion Medicine and Immunology, Medical Faculty Mannheim, Heidelberg University (Heidelberg, Germany)*

**Kubasova Irina Yu.**, *PhD, Scientific Secretary of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Head of the Department of Scientific Planning and Training of Personnel of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)*

**Kushlinskii Nikolay E.**, *PhD, DSc, Professor, Associate Member of RAS, Head of the Laboratory of Clinical Biochemistry of the Research Institute of Clinical Oncology of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)*

**Lazarevich Natalia L.**, *PhD, DSc, Professor, Head of the Laboratory of Epithelial Tumors Progress Mechanisms of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)*

**Lichtenstein Anatoly V.**, *PhD, DSc, Head of the Laboratory of Tumors Biochemistry of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)*

**Mazurenko Natalia N.**, *PhD, DSc, Professor, Head of the Laboratory of Oncogenomics of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)*

**Mirkin Sergey M.**, *Professor, White Family Department of Biology, Head in Biology Tufts University (Medford, Oregon, USA)*

**Sergeeva Natalia S.**, *PhD, DSc, Professor, Head of the Prognostics of the Efficacy of Conservative Treatment Laboratory of the P.A. Herzen Moscow Oncology Research Center – branch of National Medical Research Radiology Center of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)*

**Stepanova Evgenia V.**, *MD, DSc, Deputy Head of the Department for Interaction with the RAS, Secretary in Charge of the Scientific Coordination Council of the Federal Agency of Scientific Organizations of Russia, (Moscow, Russia)*

**Tjulandin Sergey A.**, *MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Clinical Pharmacology and Chemotherapy, Deputy Director for Research Work of the Research Institute of Clinical Oncology of N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)*

**Tchevkina Elena M.**, *PhD, DSc, Head of the Laboratory of the Regulation of Cell and Viral Oncogenes of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)*

**Tcherdyntseva Nadezhda V.**, *PhD, DSc, Professor, Associate Member of RAS, Deputy Director for Research Work, Head of the Laboratory of Molecular Oncology and Immunology of the Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia)*

**EDITORIAL COUNCIL**

**Gudkov Andrey V.**, *PhD, DSc, Professor, Sr. Vice-President for Basic Science and Head of the Department of Cell Stress Biology of the Roswell Park Cancer Institute (Buffalo, New York, USA)*

**Davydov Mikhail I.**, *MD, PhD, DSc, Professor, Academician of RAS, Member of the Presidium of the RAS, Director of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Chief Oncologist of the Ministry of Health of Russia, Honored Scientist of the Russian Federation (Moscow, Russia)*

**Zaridze David G.**, *PhD, DSc, Professor, Associate Member of RAS, Head of the Department of Epidemiology and Prevention of Tumors of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Honored Scientist of the Russian Federation (Moscow, Russia)*

**Kopin Boris P.**, *MD, PhD, DSc, Professor, Chief Research Assistant of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)*

---

# **МАТЕРИАЛЫ**

## **III Всероссийской конференции по молекулярной онкологии**

6–8 декабря 2017 г., Москва

# **MATERIALS**

## **of the 3<sup>nd</sup> All-Russian Conference on Molecular Oncology**

Moscow, 6–8 December 2017

**МАТЕРИАЛЫ III ВСЕРОССИЙСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ ПО МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОНКОЛОГИИ**

<b>СЕКЦИЯ I. Эпидемиология злокачественных опухолей и факторы канцерогенеза</b> .....	<b>8</b>
<b>СЕКЦИЯ II. Геномика и эпигеномика злокачественных новообразований</b> .....	<b>20</b>
<b>СЕКЦИЯ III. Биология и метастазирование опухолей</b> .....	<b>43</b>
<b>СЕКЦИЯ IV. Сигнальные каскады в опухолевых клетках</b> .....	<b>66</b>
<b>СЕКЦИЯ V. Фундаментальные подходы к разработке отечественных противоопухолевых препаратов</b> .....	<b>81</b>
<b>СЕКЦИЯ VI. Молекулярная диагностика и терапия опухолей</b> .....	<b>102</b>
<b>СЕКЦИЯ VII. Иммуноонкология: фундаментальные и прикладные аспекты</b> .....	<b>129</b>
<b>Список сокращений</b> .....	<b>142</b>

---

**MATERIALS OF THE 3<sup>ND</sup> ALL-RUSSIAN CONFERENCE ON MOLECULAR ONCOLOGY**

<b>SECTION I. Epidemiology of malignant tumors and factors of carcinogenesis</b> .....	<b>8</b>
<b>SECTION II. Genomics and epigenomics of malignant neoplasms.</b> .....	<b>20</b>
<b>SECTION III. Biology and metastasis of tumors.</b> .....	<b>43</b>
<b>SECTION IV. Signaling cascades in tumor cells</b> .....	<b>66</b>
<b>SECTION V. Fundamental approaches to the development of domestic antineoplastic drugs</b> .....	<b>81</b>
<b>SECTION VI. Molecular diagnostics and therapy of tumors</b> .....	<b>102</b>
<b>SECTION VII. Immunoncology: fundamental and applied aspects</b> .....	<b>129</b>
<b>List of Abbreviations</b> .....	<b>142</b>

## СЕКЦИЯ I

# ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ И ФАКТОРЫ КАНЦЕРОГЕНЕЗА

## Доклады

### Световой десинхроноз: роль в старении и канцерогенезе

**В.Н. Анисимов**

*Отдел канцерогенеза и онкогеронтологии  
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр  
онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России,  
Санкт-Петербург*

В связи со стратегическим значением для России освоения Севера и Арктического региона одной из важнейших задач становится медицинское обеспечение здоровья работающего и проживающего в этих регионах населения. Среди неблагоприятных для здоровья факторов окружающей среды следует указать на особенности светового режима этого региона, который характеризуется продолжительной «белой» ночью и полярной ночью со значительным искусственным освещением. Воздействие света в ночное время увеличилось и стало существенной частью современного образа жизни, сопровождаясь множеством серьезных расстройств поведения и состояния здоровья, включая преждевременное старение, сердечно-сосудистые заболевания, ожирение, сахарный диабет и рак.

Полученные в наших экспериментах на животных существенные доказательства канцерогенности светового десинхроноза, вызываемого постоянным освещением или естественным освещением Севера, послужили основанием для признания Международным агентством по изучению рака (МАИР) нарушений циркадианных ритмов как фактора, увеличивающего риск рака у человека. В опытах на различных моделях канцерогенеза обнаружено, что применение мелатонина оказывает угнетающее влияние на развитие опухолей молочной железы, шейки матки и влагалища, кожи, подкожной клетчатки, легких, эндометрия, печени, толстой кишки у животных. Получены также убедительные экспериментальные доказательства того, что применение мелатонина препятствует прежде-

временному старению репродуктивной системы и организма в целом, предупреждает развитие иммунодепрессии, метаболического синдрома и опухолей различных локализаций, вызываемых световым загрязнением. Актуальной задачей является формирование комплексной Национальной программы «Арктика и здоровье человека», направленной на разработку конкретных рекомендаций по профилактике как преждевременного старения, так и развития ассоциированных с возрастом заболеваний, включая злокачественные новообразования, в целях длительного сохранения трудоспособности, а также повышения качества жизни населения северных регионов.

### Индукцируемая канцерогенами экспрессия онкогенных микроРНК у экспериментальных животных и в опухолях человека

**Л.Ф. Гуляева**

*ФГБУН «НИИ молекулярной биологии и биофизики»  
СО РАН, Новосибирск;  
ФГБОУ ВПО «Новосибирский национальный государственный  
исследовательский университет»*

Изменение профиля экспрессии микроРНК (miRs), важных регуляторов экспрессии генов на посттранскрипционном уровне, могут вызывать ксенобиотики, в том числе канцерогены. Во многих типах злокачественных опухолей человека, включая рак молочной железы (РМЖ) и рак эндометрия, меняется профиль экспрессии онкогенных и онкосупрессорных микроРНК, однако причины таких изменений остаются до конца невыясненными. Известно, что многие канцерогены могут активировать ядерные рецепторы (NRs), такие как ER, CAR, AhR, с последующим усилением транскрипции их генов-мишеней, включая miRs.

С помощью методов *in silico* нами было предсказано 203 и 191 связывающих сайтов для этих рецепторов в промоторах miR-кодирующих генов в геномах крыс и человека соответственно. Для экспериментального подтверждения были выбраны онкогенные ортологи miRs, экспрессия которых меняется в опухолях человека. Была измерена экспрессия miR-190a, b, miR-126a, miR-326, miR-483, miR-3573, их генов-хозяев *Tln2*, *Egf17*, *Arrb*, *Igf2*, *Efnb1* и некоторых генов-мишеней *Cdkn1b*, *Trp53inp*, *Igf1* в разных органах крыс и клеточных культурах человека (MCF-7, первичные культуры рака эндометрия и молочной железы). Установлено, что ко-экспрессия miRs с их генами-хозяевами зависела от ти-

па клеток и времени действия канцерогена. Экспрессия регулируемых микроРНК генов также зависела от типа клеток. Наиболее ярко выраженные эффекты ксенобиотиков наблюдались в матке крыс. Экспрессия исследуемых miRs также менялась в опухолевых клетках эндометрия и молочной железы человека.

Таким образом, изменения профиля экспрессии микроРНК под действием ксенобиотиков могут быть результатом активации ядерных рецепторов с последующим изменением экспрессии генов-мишеней для микроРНК, важных регуляторов апоптоза и пролиферации клеток.

*Работа поддержана грантом РФФ № 15-15-30012*

## Постеры

### Особенности экспрессии актина в первичной и рецидивирующей базально-клеточной карциноме в шейно-лицевом районе

О.В. Волков

*Рижский университет им. Паула Страдиня, Рига, Латвийская Республика*

**Введение.** Базально-клеточная карцинома (БКК) кожи является одной из самых частых опухолей среди представителей белой расы. Несмотря на большое число методов лечения, БКК рецидивирует в 20–40 % случаев. БКК являются медленно растущими, но с большим митотическим потенциалом. Эта опухоль может расти годы и десятилетия, чтобы увеличиться вдвое, но при рецидивах она способна увеличиться за более короткое время. Актиновые микрофиламенты, которые обеспечивают клеткам возможность двигаться, придают раковым клеткам и свойства инвазивности. Дифференцировка стромальных фибробластов в миофибробласты является существенным моментом в онкогенезе и важна в изучении его особенностей, так как стромальная микросреда играет огромную роль в прогрессии опухоли.

**Задачи исследования.** Изучение особенностей экспрессии актина в первичной и рецидивирующей БКК в шейно-лицевом районе путем морфологического анализа как опухолевых, так и пограничных тканей.

**Материалы и методы.** При анализе результатов иммуногистохимических реакций использовался метод полуколичественного подсчета. Был проанализирован 31 препарат, каждый в 20 полях зрения, и экспрессия оценена по степени выраженности как 0, 1, 2: 0 – отсутствие, 1 – частичная (50 %) и 2 – выраженная экспрессия актина (>90 %) соответственно.

**Результаты.** Уже при первоначальном анализе результатов найдены отличия в экспрессии актина как в строме, так и в самой опухоли в зависимости от ее типа: первичной или рецидивирующей. Самое значительное отличие было отмечено именно при стромальной экспрессии, где рецидивы показали более выраженную экспрессию по сравнению с первичными опухолями: 47,9 и 19 % соответственно. В самой опухоли экспрессия между 2 группами была очень похожа, отличие выражалось лишь в интенсивности экспрессии: 47,9 % при рецидивах и 45 % при первичных опухолях.

**Выводы.** Выявление и понимание особенностей стромальной и опухолевой экспрессии актина в рецидивных и первичных опухолях позволит точнее предвидеть и снизить риск развития рецидивов в будущем.

### Методы безлинзовой редоксметрической, озонометрической и гипоксиметрической микроскопии на чипе для эксперимента, цитодиагностики и цитоскрининга в молекулярной онкологии

О.В. Градов, Ф.А. Насиров, А.Г. Яблоков

*ФГБУН «Институт энергетических проблем химической физики им. В.Л. Тальрозе РАН», Москва*

Исторически одной из первых апеллирующих к понятиям физической / биофизической химии теорий онкогенеза была редокс-концепция Варбурга, именем которого называются коэффициенты / метаболические клеточные показатели поглощаемого и эмитируемого газа (воздух/ $\text{CO}_2$ ; дыхание –  $\text{O}_2$ , гликолиз –  $\text{CO}_2$ ), соответствующие количеству образующегося лактата на мг/ч. До настоящего времени (2017, DOI: 10.1089/ars.2017.7370) окислительно-восстановительные параметры и, как следствие, газометрические параметры являются для многих работ характеризующими онкогенез и эффект направленных против него агентов (в том числе физических, лучевых, равно как и эффект действия ряда физических факторов как индукторов или акселераторов онкогенеза); однако в отличие от анализа биоматериала (конденсированной фазы – в терминах физической химии) с помощью редокс-индикаторов анализ газовой фазы выделений осуществляется редко, что связано с отсутствием систем анализа такого рода, доступных клиническим онкологам (за исключением GC или GC–MS, не входящих в обязательное оснащение соответствующих лабораторий).

Нами описывается создание систем газометрического анализа, синхронизированного с микроскопией в контролируемой газовой атмосфере. Конструктивно системы основаны на компактных и недорогих герметизируемых/вакуумных камерах настольного базирования, а детектирование газов осуществляется с помощью оптических и твердотельных датчиков соответствующих газов. В наиболее ранних версиях использование оптических датчиков и обычной микроскопии обеспечивало возможность установления корреляции между энергией ультрафиолетового пучка (как инициатора процессов либо как агента микропучковой пунктуры клетки по Чахотину), концентрации вырабатываемых при этом активных форм кислорода – согласно работам акад. Н.М. Эмануэля о роли свободных радикалов

в онкогенезе и росте опухолей — и легко формализуемыми морфологическими либо цитометрическими характеристиками клеток (PMID: 23304991; DOI: 10.1007/s10527-013-9319-8).

Впоследствии (2016), опираясь на представления о газометрических метаболических показателях дыхания и гликолиза контрольных и раковых клеток, мы начали разработку комплексных (на несколько газов одновременно) микроскопических систем корреляционного анализа состава газов, выделяемых ими в среду, стандартного состава исходной среды и вызываемых отклонениями от него (или факторами, вызывающими отклонения — как УФ-С в формировании озона, как действующего агента) отклонений в цитоморфологических/цитометрических (цитофотометрических и цитофлуориметрических) дескрипторах. В целях компактизации был осуществлен переход к безлинзовой контактной микроскопии на чипе, результаты применения которой в онкогематологии демонстрируются в постере.

*Работа поддержана грантом  
РФФИ 16-32-00914/16.*

## Штаммы вируса Эпштейна–Барр, персистирующие у больных раком носоглотки в России

Э. Дубар, К. В. Смирнова

*ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, Москва*

Вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) является одним из наиболее убиквитарных инфекционных агентов для человеческой популяции: им заражено более 90 % населения планеты. При этом его этиологическая роль в возникновении большого числа злокачественных новообразований человека, в том числе недифференцированного рака носоглотки (нРНГ), считается доказанной. Частота ВЭБ-ассоциированных заболеваний варьирует в разных географических регионах, и с учетом убиквитарности ВЭБ встает вопрос: какие факторы вносят вклад в онкогенный потенциал вируса? Многолетние исследования ВЭБ показали, что среди таких факторов могут рассматриваться структурные особенности генома вируса и влияние вирусных белков на изменение сигнальных путей в клетках вирусоносителя. С учетом отсутствия данных о штаммах ВЭБ, персистирующих среди пациентов с ВЭБ-ассоциированными злокачественными патологиями в России, целью данной работы было изучение изолятов ВЭБ и образцов его основного онкогена *LMP1* среди больных нРНГ и здоровых лиц в стране.

В качестве образцов для исследования мы использовали смывы ротоглотки от российских больных с установленным диагнозом нРНГ, проходивших лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина»

Минздрава России, а также здоровых лиц. Для систематизации вариантов *LMP1* была использована классификация, предложенная Edwards и соавт. (1999); детекцию ВЭБ-1 и ВЭБ-2 проводили, основываясь на вариабельности вирусного гена *EBNA2*.

В результате проведенного исследования показано, что в группе больных нРНГ ( $n = 18$ ) штамм ВЭБ-1 встречается достоверно чаще ( $p < 0,05$ ), чем в группе здоровых вирусоносителей ( $n = 23$ ), что согласуется с опубликованными данными исследований *in vitro*, которые указывают на большую трансформирующую активность ВЭБ-1 по сравнению с ВЭБ-2. Стоит отметить, что, по данным литературы, для других регионов такой взаимосвязи между ВЭБ-1 и нРНГ не выявлено.

Анализ последовательностей вирусного онкогена *LMP1* не выявил связи между конкретными вариантами *LMP1* и нРНГ, однако показано, что аминокислотная замена в положении S366T/A/N, характерная для всех дивергентных вариантов *LMP1*, достоверно чаще ( $p < 0,05$ ) встречается среди больных нРНГ ( $n = 19$ ), чем среди здоровых ( $n = 8$ ). Полученные данные могут указывать на большую трансформирующую активность выявленных штаммов ВЭБ у больных нРНГ. Дальнейшее детальное изучение биологических свойств различных российских вариантов ВЭБ, вероятно, позволит нам приблизиться к пониманию механизмов канцерогенеза, осуществляемого различными штаммами ВЭБ.

## Тканеспецифическая ER- и CAR-регулируемая экспрессия микроРНК под действием дихлордифенилтрихлорэтана

Т. С. Калинина<sup>1,2</sup>, В. В. Конончук<sup>1</sup>

*<sup>1</sup>ФГБУН «НИИ молекулярной биологии и биофизики» СО РАН, Новосибирск;*

*<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»*

Изменение профиля экспрессии микроРНК (miR), важных регуляторов экспрессии генов на посттранскрипционном уровне, могут вызывать ксенобиотики, в том числе канцерогены. Однако роль негенотоксических соединений в данном процессе остается малоизученной. Классическим ксенобиотиком с негенотоксическим механизмом действия является дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ), который в 1940–1960 годах активно использовали для борьбы с сельскохозяйственными вредителями и малярией. Длительный период полураспада ДДТ, его способность к биоаккумуляции и активное использование в прошлом способствовали мировому загрязнению данным соединением и его метаболитами. Эффекты ДДТ обусловлены активацией

ядерных рецепторов, таких как CAR и ER, с последующим изменением экспрессии их генов-мишеней, регулирующих клеточный цикл, индукцию клеточной пролиферации, в связи с чем увеличивается риск возникновения опухоли в органах с высокой экспрессией данных рецепторов.

Известно, что ДДТ также может влиять на экспрессию микроРНК, однако механизм его действия остается неизученным. Поэтому методами *in silico* мы выполнили поиск микроРНК, экспрессия которых может регулироваться рецепторами CAR и ER. В результате мы выявили miR-1843a, -190a, -190b и кластер miR-23a, -24, -27a. Для экспериментального подтверждения активации их экспрессии под действием ДДТ был измерен уровень экспрессии данных микроРНК и их генов-мишеней в печени, матке, яичниках и молочной железе самок крыс Вистар, обработанных разными дозами ДДТ в течение 3 мес. Выявлено достоверное увеличение экспрессии miR-190a во всех исследуемых органах. Экспрессия miR-190b увеличивалась в матке, молочной железе, печени. Уровень miR-23a, -24, -27a достоверно изменялся в яичниках крыс. Все выявленные изменения зависели от дозы ДДТ. Для подтверждения эффектов ДДТ на экспрессию микроРНК был также оценен уровень мРНК их генов-мишеней. Обнаружено снижение экспрессии мишеней miR-190a, -190b (*Trp53inp1*, *Cdkn1b*) в матке крыс. В яичниках снижался уровень мРНК потенциальных генов-мишеней miR-23a, -24, -27a – *Bmf*, *Fas*, *Ago2*. Таким образом, увеличение экспрессии онкогенных микроРНК под действием ДДТ может быть связано с активацией рецепторов CAR и ER.

## Канцерогенные соединения как эпигенетические регуляторы экспрессии генов

В.П. Максимова<sup>1</sup>, А.В. Холодова<sup>2</sup>, Е.М. Жидкова<sup>1</sup>,  
Е.А. Лесовая<sup>1,3</sup>, Л.А. Эристави<sup>1</sup>, М.Г. Якубовская<sup>1</sup>,  
К.И. Кирсанов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Московский технологический университет»;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России

**Введение.** Эпигенетические механизмы регуляции экспрессии генов вовлечены во многие биологические процессы (пролиферация, дифференцировка и др.). Одним из факторов, способных активировать данные механизмы в клетках человека, является воздействие канцерогенных ксенобиотиков. Однако в отношении известных канцерогенов спектр эпигенетических эффектов был проанализирован лишь для ограниченной группы соединений, при этом их способность реактивировать экспрессию генов не изучалась.

**Задачи исследования.** Изучение влияния растворителей, а также канцерогенных ксенобиотиков на эпигенетические механизмы регуляции экспрессии генов при помощи модельной системы HeLa T1.

**Материалы и методы.** В работе использовали поликлональную клеточную линию HeLa T1 с эпигенетически репрессированным вектором, несущим репортерный ген *GFP*. Эпигенетическую активность соединений определяли методом проточной цитофлуориметрии. Генотоксический эффект канцерогенов в эпигенетически активной концентрации определяли методом ДНК-комет. Исследование влияния ксенобиотиков на интегральный уровень метилирования в клетке осуществляли с помощью метода пиросеквенирования с бисульфитной конверсией.

**Результаты и выводы.** Некоторые ксенобиотики приобретают мутагенную и часто канцерогенную активность после биохимических превращений внутри организма. Для исследования таких соединений было необходимо протестировать все варианты индукции метаболических путей. При изучении различных эффектов проканцерогенов в качестве метаболического активатора, как правило, используют смесь, содержащую фракцию S9 печени крыс. Исследование эпигенетических эффектов данного препарата показало, что ее компоненты обладают эпигенетической активностью, что исключает возможность использования данного активатора при скрининге эпигенетической активности проканцерогенов. В то же время установлено, что клеточная линия HeLa T1 имеет активную ферментативную систему метаболизма ксенобиотиков, что делает ее самодостаточной модельной системой.

В рамках данной работы мы продемонстрировали, что эпигенетической активностью при отсутствии цитотоксического эффекта обладают диметилсульфоксид, ацетон, ацетонитрил и метанол. Скрининг 28 канцерогенов выявил способность следующих соединений к реактивирующему действию на экспрессию эпигенетически репрессированного гена *GFP*: N-нитрозометилмочевина, 3-гидроксибензпирен, 11,12-бензфлуорантен, трифенилен, 2-нитрофлуорен и N-нитрозодиметиламин, N-нитрозодифениламин и гексахлорофен. Для этих соединений мы изучили их способность вызывать повреждения ДНК в клетках HeLa-T1 в эпигенетически активных концентрациях, в результате чего было обнаружено, что для N-нитрозометилмочевины эпигенетический эффект регистрируется в более низких концентрациях, чем генотоксический.

При исследовании эпигенетических механизмов действия канцерогенов и растворителей показано, что их действие не связано с изменением интегрального уровня метилирования ДНК в клетке.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проект № 17-15-01526).*

## Инфицированность вирусом Эпштейна–Барр здорового населения Республики Татарстан

А.А. Фроловская, А.К. Лубенская, К.В. Смирнова

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

Доказано, что вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ), убиквитарно распространенный среди населения земного шара, также ассоциирован с целым спектром доброкачественных и злокачественных новообразований. К числу последних относят рак носоглотки (РНГ), лимфому Беркитта, определенные гистологические варианты лимфомы Ходжкина, рака желудка и целый ряд других. В различных географических регионах мира и этнических группах выявлены варианты ВЭБ, в ключевых генах которых обнаружены определенные наборы мутаций (замены, вставки и делеции), влияющие на их трансформирующие свойства и онкогенный потенциал. К числу функционально важных генов, с которыми связан трансформирующий и онкогенный потенциал ВЭБ, относится латентный мембранный белок 1 (*LMP1*), обладающий выраженным полиморфизмом. С учетом этнического разнообразия народов, населяющих Россию, а также отсутствия данных о штаммах ВЭБ, персистирующих среди здорового населения страны, целью данной работы явилось изучение инфицированности здорового населения Республики Татарстан ВЭБ, а также характеристика его

основного онкогена *LMP1* среди персистирующих штаммов вируса.

Тестирование образцов смывов ротоглотки на присутствие ДНК ВЭБ в группе здоровых лиц показало, что среди населения Республики Татарстан инфицированность ВЭБ составила 100 %. Транслированные аминокислотные последовательности образцов *LMP1*, амплифицированные и секвенированные из ДНК изучаемых лиц, были повергнуты филогенетическому анализу. При этом не выявлено доминирования определенного варианта *LMP1*, все изученные образцы были равномерно распределены между известными в литературе низко- и высокодивергентными вариантами *LMP1*: B95-8/A, Med+, Med- и China1. Среди исследованных образцов *LMP1* не выявлена высокотуморогенная Сао-подобная делеция (30 п. н.), типичная для больных нРНГ из Юго-Восточной Азии. В то же время все исследованные образцы *LMP1* содержали в своей последовательности аминокислотную замену в положении 366 (S366T), характерную для его высокотрансформирующих вариантов. Кроме того, обнаружены Сао-специфические мутации в положениях 334 (Q334R) и 328 (E328A/E328Q). Полученные результаты свидетельствуют о персистенции среди населения Республики Татарстан штаммов ВЭБ со специфическими последовательностями онкогена *LMP1*. Выявленные отдельные мутации, характерные для высокотрансформирующих вариантов *LMP1*, при воздействии дополнительных факторов могут, вероятно, явиться важным фактором, стимулирующим ВЭБ-ассоциированный канцерогенез.

## Тезисы

### Пространственно-временной анализ распространения рака предстательной железы в районах Ростовской области

О.Е. Архипова<sup>1</sup>, Е.А. Черногубова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт аридных зон Южного научного центра Российской академии наук», Ростов-на-Дону;

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону

**Задачи исследования.** Пространственно-временной анализ распространения рака предстательной железы (РПЖ) в районах Ростовской области.

**Материалы и методы.** В качестве материала исследования использованы статистические данные о первичной выявляемости РПЖ в 43 районах и 16 городах Ростовской области с 2001 по 2014 г. Анализ заболеваемости РПЖ в Ростовской области проведен на основе статистического показателя Getis-Ord  $G_i^*$  методами пространственно-временной статистики. Этот инструмент идентифицирует статистически значимые пространственные кластеры высоких значений («горячих точек») и низких значений («холодных точек») уровня первичной выявляемости РПЖ.

**Результаты.** Уровень заболеваемости РПЖ в Ростовской области за период с 2001 по 2014 г. вырос на 86,9 % ( $p < 0,05$ ) с 9,7 до 18,1 случая на 100 тыс. населения. Анализ «горячих точек» (Hot-Spot Analysis) заболеваемости РПЖ в Ростовской области позволил выделить пространственные кластеры высоких значений — «горячие точки», где уровень заболеваемости РПЖ остается высоким на протяжении всего анализируемого периода с 2001 по 2014 г. Так, постоянно высокий уровень заболеваемости РПЖ отмечен в Бокковском и Советском районах Ростовской области. Неблагоприятная эпидемиологическая обстановка отмечена также в районах Ростовской области, обозначенных как «новые горячие точки» — это Кашарский, Заветинский, Куйбышевский, Матвеево-Курганский, Родионово-Несветаевский и Мясниковский районы. К районам «спонтанной точки», где уровень заболеваемости РПЖ резко изменяется в разные годы, относятся Милютинский и Обливский районы.

**Выводы.** Рост первичной выявляемости РПЖ связан с введением мониторинга ПСА, появлением новых медицинских технологий, однако выявленная территориальная медико-экологическая контрастность (группы районов с различным рейтингом качества среды обитания и общественного здоровья), территориальная неоднородность заболеваемости РПЖ, наличие «го-

рячих точек» заболеваемости свидетельствуют о тесной связи уровня заболеваемости РПЖ и уровня медико-экологической безопасности.

### Компьютерное моделирование молекулярно-генетических механизмов возникновения онкопатологии

М.С. Гильдиева<sup>1</sup>, А.А. Абдувалиев<sup>2</sup>, М. Сайдалиева<sup>3</sup>,  
М.Б. Хидирова<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Республиканский онкологический научный центр, Ташкент, Республика Узбекистан;

<sup>2</sup>Ташкентская медицинская академия, Республика Узбекистан;

<sup>3</sup>Центр разработки программных продуктов и аппаратно-программных комплексов при Ташкентском университете информационных технологий, Республика Узбекистан

Актуальной областью современных биологических и количественных исследований является изучение условий реализации молекулярно-генетических систем в ходе возникновения злокачественных новообразований. Как известно, на ранних стадиях организм развивается на основе продуктов материнской молекулярно-генетической системы. Хотя соответствующая система генов существует всегда в геноме, вследствие ее функции, обеспечивающей автономное размножение клеток (в норме необходимой только для зародыша в раннем развитии), используются только их копии в виде иРНК, запасенных как информсомы. Запись и организация хранения генетической информации об автономном развитии происходят в ходе развития половых клеток (на этапе lampbrush) в специально организованных, исключительно особых условиях. Модельные исследования показали, что система генов рассматриваемых функций состоит из иницирующих, структурных, организующих хранение и блокирующих групп генов. Следует, однако, допустить, что в некоторых исключительных условиях данная система генов может стать функционирующей. В настоящее время известно множество генов (онкогенов) и белков-ферментов (так называемых онкобелков), принимающих участие в регуляции процессов в ходе неконтролируемого размножения клеток. Наши исследования показывают возможность, на основе моделирования регуляторики молекулярно-генетических систем выявлять возможные пути диагностики (на основе анализа закономерностей синтеза продуктов иницирующих систем генов), профилактики и лечения (на основе изучения закономерностей функционирования генов,

блокирующих активность системы генов автономного развития) раковых заболеваний.

Результаты количественного анализа разработанных уравнений показывают возможность существования хаотичного поведения (возникновение различных видов хромосомных aberrаций), эффекта срыва решений к тривиальному аттрактору — эффекта «черная дыра» (метастаз).

## Некоторые прогностические маркеры при раке полости рта

Т.А. Зыкова, П.В. Светицкий, Г.П. Нистратов,  
О.А. Богомолова

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

**Введение.** Рак полости рта и ротоглотки занимает ведущее положение среди злокачественных опухолей головы и шеи. В настоящее время ведется поиск критериев, позволяющих прогнозировать течение злокачественного процесса при опухолях данных локализаций. Установлено, что вирусы папилломы человека (ВПЧ) могут участвовать в процессе генеза плоскоклеточного рака, в том числе полости рта и ротоглотки.

**Задачи исследования.** Изучить возможность использования показателя ВПЧ-инфицирования ткани опухоли в качестве прогностического маркера для плоскоклеточного рака полости рта и ротоглотки.

**Материалы и методы.** Исследовали FFPE ткани опухоли. Депарафинизацию проводили с использованием ксилола и этанола 96°, экстракцию ДНК — методом сорбции на колонках. ДНК ВПЧ высокого и низкого канцерогенного риска выявляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Обследовано 34 больных раком полости рта и ротоглотки.

**Результаты.** ДНК ВПЧ обнаружена в 35,3 % (12) образцов, в том числе 6-й тип в 2,9 % (1), 11-й — в 8,8 % (3), 16-й — в 17,6 % (6), 35-й — в 2,9 % (1), сочетание 16-го и 35-го типов — в 2,9 % (1) проб. Из общего количества образцов тканей опухоли, в которых была обнаружена ДНК ВПЧ, 58,3 % (12) имели высокую степень дифференцировки ( $G_1$ ), а 41,7 % (5) — умеренную ( $G_2$ ). Напротив, опухоли, не инфицированные ВПЧ, были высокодифференцированными в 36,4 % (8), а умеренно-дифференцированными — в 63,6 % (14) случаев. Среди больных с ВПЧ-положительным статусом метастатическое распространение имели 41,7 % (5) опухолей, в 58,3 % (7) случаев метастазы не обнаружены. У больных с ВПЧ-отрицательными опухолями эти показатели составили 54,5 % (12) и 45,5 % (10) соответственно. В группе больных с ВПЧ-положительными опухолями зарегистрировано 33,3 % (4) смертельных исходов, 66,7 % (8) были живы. Среди больных с ВПЧ-отрицательным статусом опухоли эти

показатели составили 54,5 % (12) и 45,5 % (10) соответственно.

**Выводы.** ВПЧ-положительные опухоли чаще имели высокую степень дифференцировки, реже метастазировали, показатель смертности среди больных с ВПЧ-положительными опухолями был меньше, чем в группе с ВПЧ-отрицательными. Возможно, это позволяет рассматривать инфицирование ткани опухоли ВПЧ как благоприятный прогностический признак.

## Инфицирование ВПЧ как фактор риска при раке пищевода

Т.А. Зыкова, Е.М. Франциянц, Е.Н. Колесников,  
Е.А. Шевякова, Н.С. Карнаухов, А.Л. Базаев, О.И. Кит  
ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону

**Введение.** Рак пищевода представляет собой агрессивную по течению и прогнозу злокачественную опухоль человека. К факторам риска развития рака пищевода относят алкоголь, курение, некоторые генетические нарушения. Наиболее обсуждаемым является вопрос о причастности ВПЧ к развитию рака пищевода.

**Задачи исследования.** Изучить частоту инфицирования ткани опухоли ВПЧ высокого (ВКР) и низкого канцерогенного риска (НКР) при раке пищевода.

**Материалы и методы.** Обследовано 28 больных раком пищевода. Исследовали FFPE ткани. Амплификацию и детекцию ДНК проводили методом ПЦР-РВ в 4 тестах: 2 качественных (для определения генотипа ВПЧ ВКР и НКР) и 2 количественных, в одном из которых мишенью являлся участок генома ВПЧ в области  $E1/E2$ , в другой — в области гена  $E6$ . Как внутренний контроль использовали участок ДНК  $\beta$ -глобина (Glob). Результат учитывали при его количестве не менее 1000 копий/реакция.

**Результаты.** ДНК ВПЧ ВКР была обнаружена в 64,3 % (18), ВПЧ НКР (6/11 типы) — ни в одном образце опухолевой ткани. Тип вируса был определен в 15 образцах, в 3 случаях только филогенетическая группа (A9). В 86,7 % (13) установлен 16-й тип ВПЧ, в том числе в 1 случае вместе с 51-м типом, 18-й тип — в 13,3 % (3) образцов. Частота инфицирования опухолевой ткани у мужчин и женщин не отличалась и составила 60,9 и 60,0 % соответственно. При гистологическом подтверждении плоскоклеточного рака ВПЧ-положительными было 68,4 % (13), аденокарцином — 55,6 % (5) образцов. При первичном раке ДНК ВПЧ обнаружена у 60,9 % (14), при рецидиве — у 80,0 % (4) больных. Вирусная нагрузка была низкой, средний показатель составил  $1,4 \lg$  копий ДНК  $E6/10^5$  копий Glob и  $2,1 \lg$  копий ДНК  $E1/10^5$  копий Glob. В 77,8 % (14) ВПЧ был выявлен только в тестах, ДНК-мишенью которых был ген  $E6$ , в 16,7 % (3) — гены  $E6$  и  $E1$ , в 5,5 % (1) — только ген  $E1$ .

**Выводы.** Установлен высокий уровень инфицирования ВПЧ опухолевой ткани при раке пищевода. Преобладал 16-й тип. Частота инфицирования мужчин и женщин не отличалась. Чаще были инфицированы образцы ткани опухоли при плоскоклеточном раке, чем при аденокарциноме, и при рецидиве опухоли, чем при первичном заболевании. Вирусная нагрузка была низкой, преобладала интегрированная форма вируса.

## Эпидемиология и молекулярная биология острых лейкозов взрослых в крупном промышленном регионе Сибири

И.Б. Ковынев<sup>1</sup>, Т.И. Поспелова<sup>1</sup>, М.М. Агакишиев<sup>1</sup>, С.А. Таирова<sup>2</sup>, Р.В. Тарновский<sup>1</sup>, В.С. Овчинников<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России;

<sup>2</sup>ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 2», Новосибирск

Острый лейкоз — наиболее злокачественная форма неоплазии системы кроветворения. Полноценность данных по эпидемиологии этого заболевания связана не только с клинической и цитохимической характеристикой опухоли, но и с распознаванием целого спектра иммунофенотипических, цитогенетических и молекулярно-генетических признаков.

Целью исследования являлась оценка заболеваемости различными вариантами острых миелоидных и лимфоидных лейкозов в соответствии с критериями классификации ВОЗ (2008) на территории г. Новосибирска и Новосибирской области за период 2006–2016 гг. Проведено ретроспективное исследование данных первичной документации по 410 взрослым пациентам с острым лейкозом. Наряду с рутинными показателями учитывались результаты молекулярно-биологических методов исследования субстрата опухоли (FISH-анализ, проточная иммуноцитофлуориметрия и метод геночипов («ЛК-БИОЧИП» НИИ им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва).

Заболеваемость острым лейкозом по г. Новосибирску и Новосибирской области составила 2,7 случая на 100 тыс. взрослого населения: острым миелобластным лейкозом (ОМЛ) — 2,0 на 100 тыс., острым лимфобластным (ОЛЛ) — 0,7 на 100 тыс. в год. В структуре ОМЛ преобладали М1 (19,8 %), М2 (44,2 %) и М4 (20,3 %) FAB-варианты. У больных с ОЛЛ В-линейные варианты (52,1 %) преобладали над Т-клеточными 26,3 % ( $n = 22$ ). Бифенотипические подтипы острого лейкоза составили 15,9 %, недифференцируемые — 5,7 %. Среди В-клеточных ОЛЛ отмечена высокая частота препреВ (common)-варианта (20,1 %), среди Т-клеточных преобладал «зрелый» Т-фенотип лимфобластов (13,2 %). Рекуррентные генетические аберрации встре-

чены в 25 % случаев острых лейкозов взрослых: при ОМЛ — в 70,6 %, при ОЛЛ — в 29,4 % случаев. Среди пациентов с ОМЛ наиболее высока встречаемость мутации генов *NPM1* (29,2 %) и *CEBPA* (16,7 %). При ОЛЛ преобладали случаи с Ph-хромосомой — t(9;22)(q34;q11.2) и экспрессией *BCR-ABL1* (18,6 %), а также гипердиплоидный (32,6 %) и гиподиплоидный (27,9 %) варианты. Рефрактерностью к химиотерапии отличались случаи с множественными аберрациями с вовлечением генов *MLL*, *AML/ETO*, *BCR/ABL* и *MLL*, *AML/ETO* и *TEL/AML*.

## Антигены главного комплекса гистосовместимости при гепатоцеллюлярной карциноме

Б.Н. Левитан, Е.А. Попов

ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России

**Задачи исследования.** Установить ассоциативные связи между носительством определенного набора тканевых антигенов гистосовместимости HLA (АГ HLA) класса I и II локусов А, В, С и DR и повышенным риском возникновения гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) в популяции русских Астраханской геногеографической зоны.

**Материалы и методы.** Обследован 51 больной ГЦК (41 мужчина и 10 женщин в возрасте от 32 до 73 лет). Диагноз установлен на основании клинических данных, результатов ультразвукового исследования (УЗИ) и компьютерной томографии (КТ), определения альфа-фетопротеина (АФП), подтвержден гистологически у 75 % больных. У всех пациентов проведено серологическое типирование антигенов HLA класса I и II локусов А, В, С и DR. У 9 обследованных (17,6 % случаев) диагноз ГЦК был установлен без предшествующего гепатологического анамнеза, у 42 — на фоне цирроза печени в сроки от 4 до 13 лет с момента постановки диагноза. У всех больных определяли маркеры вирусов гепатита В, С, Д. Маркеры HBV обнаружены у 29 больных ГЦК (56,9 %), HCV — у 7 (13,7 %), HDV на фоне HBV-инфекции — у 8 (15,7 %) пациентов. Контрольную группу составили 200 здоровых доноров.

**Результаты.** Установлено, что в группе больных ГЦК на фоне цирроза печени статистически достоверным было повышение частоты регистрации АГ HLA-V16 (относительный риск (ОР) 3,40;  $\chi^2 = 7,213$ ;  $p < 0,01$ ), В35 (ОР 3,64;  $\chi^2 = 12,472$ ;  $p < 0,01$ ), Сw4 (ОР 2,75;  $\chi^2 = 8,244$ ;  $p < 0,01$ ), а также гомозиготного носительства HLA-аллелей локуса А (ОР 2,41;  $\chi^2 = 7,038$ ;  $p < 0,01$ ). Именно факт гомозиготности по локусу А имел наиболее высокий показатель атрибутивного риска (EF 0,30). Для HLA-A16, В35 и Сw4 показатель EF составил 0,15; 0,26 и 0,25 соответственно. Статистически значимым было снижение частоты регистрации АГ HLA-B7

(RR 0,18;  $\chi^2 = 9,770$ ;  $p < 0,05$ ) с достаточно высоким показателем превентивной фракции (PF 0,18). Кроме того, лишь у 1 из 42 больных ГЦК имелся АГ HLA-B17 (ОР 0,24; PF 0,06;  $\chi^2 = 5,149$ ;  $p < 0,025$ ). В группе больных ГЦК без предшествующего анамнеза и цирроза печени не установлено статистически значимого повышения частоты какого-либо АГ HLA класса I и II по сравнению с контрольной группой. Лишь у 2 пациентов в этой выборке выявлены маркеры HBV.

**Выводы.** ГЦК является генетически детерминированной патологией, ассоциированной с генами HLA-комплекса, и развивается чаще как исход вирусного цирроза печени. Повышенный риск ГЦК связан с аллелями HLA-B16, B35, Cw4 и гаплотипами HLA-A2/B35, A9/B16, B35/Cw4, B16/Cw4. Аллели HLA-B7, B17 и гаплотипы HLA-A2/B7, A3/B7, A2/B17 связаны с резистентностью к ГЦК.

## Ассоциированность молекулярных маркеров рака молочной железы с выраженностью тревожно-депрессивного синдрома

Т.Ф. Маливанова, Н.Н. Мазуренко, Г.А. Ткаченко  
ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** Тревожно-депрессивный синдром, развивающийся у больных РМЖ в результате психологического стресса, способен значительно усугублять течение онкологического заболевания. В патофизиологии депрессии рассматриваются механизмы с участием рецепторов стероидных гормонов и Her2/neu, экспрессионный профиль которых, в свою очередь, лежит в основе молекулярной классификации РМЖ. Полиморфизмы гена *ESR1 rs2234693* и *rs9340799* оказывают влияние на уровень транскрипции РЭ-альфа, данные об их ассоциации с симптомами тревоги и депрессии противоречивы. Полиморфизм гена *HER2*, приводящий к замене Pe655Val, увеличивает эффективность гетеродимеризация Her2/neu и приводит к активации NRG/Her-сигнального пути, вовлеченного в развитие психических расстройств. Исследований полиморфизма Pe655Val гена *HER2* при депрессии ранее не проводилось.

**Задачи исследования.** Определение зависимости уровня тревоги и депрессии от молекулярных маркеров РМЖ.

**Материалы и методы.** Исследованы первичные больные РМЖ без отдаленных метастазов ( $n = 101$ ). Психическое состояние определяли до операции при помощи Госпитальной шкалы тревоги и депрессии и интерпретировали как норму, субклиническую и клиническую тревогу (КТ) и депрессию (КД). Динамика тревожно-депрессивного состояния прослежена для

27 больных путем повторного обследования через год. Определение аллельных вариантов *ESR1 C>T rs2234693* и *A>G rs9340799* и Pe655Val гена *HER2* проводили методом ПЦР и анализа полиморфизма длины рестриционных фрагментов. Для оценки риска рассчитывали отношение шансов (ОШ) с 95 % доверительным интервалом (ДИ).

**Результаты.** В исследованной выборке уровни тревоги и депрессии не зависели от возраста, стадии заболевания и степени злокачественности опухоли. В предоперационном периоде клиническая тревога обнаружена у 28 %, клиническая депрессия — у 8 % больных РМЖ. Существенно больший риск клинической тревоги имели больные с Her2-обогащенным подтипом опухоли — ОШ 6,4 (95 % ДИ 1,4–28,1) и носители ValVal в кодоне 655 гена *HER2* — ОШ 5,9 (95 % ДИ 0,99–35,1). В послеоперационном периоде уровень тревоги нормализовался, и частота женщин с клинической тревогой снизилась до 4 %, а депрессия сохранилась на прежнем уровне. При этом значительно больший риск сохранения или развития субклинически выраженной депрессии имели носители *TT rs2234693* гена *ESR1* — ОШ 16,0 (95 % ДИ 1,3–191,3).

**Выводы.** Выраженность тревоги и депрессии у больных РМЖ зависит не от тяжести заболевания, а от полиморфизмов генов *ESR1* и *HER2* и молекулярного (Her2-обогащенного) подтипа опухоли.

## Полногеномный анализ влияния генетической предрасположенности и курения на риск немелкоклеточного рака легкого в европейской популяции

А.Ф. Мукерия<sup>1</sup>, О.В. Шаньгина<sup>1</sup>, М.В. Гаас<sup>2</sup>,  
Н.Д. Плытник<sup>1</sup>, Д.Г. Заридзе<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ГБУЗ «Онкологический клинический диспансер № 1»  
Департамента здравоохранения г. Москвы

В результате двухступенчатого полногеномного анализа, в который были включены в общей сложности 30 тыс. пациентов с диагнозом немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) и контрольных лиц, выявлены 3 новых варианта полиморфизма (SNP), связанных с риском развития НМРЛ в зависимости от статуса курения (никогда не курившие /курящие и курившие в прошлом) и гистологического типа опухоли. На первом этапе исследования изучалась связь SNP с курением среди 13 336 пациентов с диагнозом НМРЛ. В дальнейшем обнаруженные потенциальные SNP-кандидаты со статистической достоверностью  $p < 0,001$  были протестированы методом стандартного анализа случай–контроль, включающего 13 970 контрольных лиц. Показатель относительного риска (ОР), связанный

с взаимодействием (interaction) двух SNP, rs6441286 и rs17723637, курения и НМРЛ, независимо от гистологического типа, статистически достоверный (ОР 1,24;  $p = 6,9 \times 10^{-7}$  и ОР 1,37,  $p = 3,49 \times 10^{-7}$ ). Третий выявленный вариант полиморфизма, rs4751674, связан с риском развития плоскоклеточного рака (ОР 0,58;  $p = 8,12 \times 10^{-7}$ ). Данное исследование является самым крупным из опубликованных полногеномных исследований по изучению связи генетического полиморфизма и курения с риском НМРЛ. Три новых обнаруженных варианта полиморфизма можно рассматривать в качестве потенциальных биомаркеров для раннего выявления этой формы опухоли.

Полученные результаты свидетельствуют о важной роли взаимодействия генетической предрасположенности и курения в этиологии рака легкого и создают предпосылки для дальнейшего изучения возможных факторов наследования данного заболевания.

### Выявление новых вариантов полиморфизма, предрасполагающих к раку легкого в зависимости от гистологического типа опухоли

А.Ф. Мукерия<sup>1</sup>, О.В. Шаньгина<sup>1</sup>, М.В. Гаас<sup>2</sup>,  
В.А. Драудин-Крыленко<sup>1</sup>, Д.Г. Заридзе<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ГБЗУ «Онкологический клинический диспансер № 1»  
Департамента здравоохранения г. Москвы

Несмотря на идентификацию новых локусов предрасположенности к раку легкого, остается много неясного и спорного в вопросах наследственной передачи этого заболевания. Проведен широкомасштабный анализ результатов генотипирования 14 803 пациентов с диагнозом «рак легкого» и 12 262 контрольных лиц, представителей европейской популяции, которые в комбинации с ранее существовавшими данными впоследствии были включены в полногеномное исследование рака легкого, насчитывающее почти 30 000 случаев и 56 500 контрольных лиц. Выявлены 18 значимых и представляющих интерес вариантов полиморфизма предрасположенности к развитию заболевания, причем 10 из них — это вновь обнаруженные, характеризующиеся выраженной гетерогенностью генетической предрасположенности, в зависимости от гистологического типа опухоли. Из 10 вариантов полиморфизма 4 связаны с риском рака легкого независимо от гистологического типа, а 6 — непосредственно с аденокарциномой легкого. При оценке количественных изменений в профиле экспрессии генов (eQTL) в 1425 образцах нормальной ткани были определены три потенциальных гена, ответственных за предрасположенность к раку легкого, — гены-кандидаты *RNASET2*,

*SECISBP2L* и *NRG1*. Кроме того, внимание исследователей привлекли ген *CHRNA2*, альфа-2-никотиновый холинергический рецептор, и гены *OFBC1* и *RTEL1*, связанные с длиной теломер. Дальнейшие исследования и поиск таргетных генов позволят нам значительно продвинуться в понимании этиологии рака легкого.

### Бластомогенная активность НОЕСНТ33342 в тесте SMART, обусловленная его рекомбиногенным действием

Д.С. Набережнов, К.И. Кирсанов, Г.А. Белицкий,  
М.Г. Якубовская

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

При изучении эффектов Hoeschst33258 и Hoeschst33342 в тесте SMART было обнаружено, что обработка личинок *D. melanogaster* этими соединениями приводит к значительному увеличению частоты появления опухолевых клонов. Поскольку в тесте Эймса на мутагенную активность данные соединения не вызывали повышения частоты ревертантных клонов, мы предположили, что их эффект обусловлен рекомбиногенным действием.

Для проверки этой гипотезы использованы модификации метода, в которых индукция репарации путем гомологичной рекомбинации по хромосоме с маркерным геном либо была заблокирована полностью, либо значительно снижена. В первом случае дрозофилы, имеющие мутацию гена *warts* в гетерозиготном состоянии, также имели хромосому-балансер (ТМЗ). Рекомбинация в такой хромосоме приводит к генетической катастрофе (образуются хромосомы с 2 центромерами или без центромеры), что влечет за собой гибель клетки и, соответственно, не проявляется в тесте.

В результате экспериментов на линии дрозофил с хромосомой-балансером (*w; wts<sup>P4</sup>/TM3, Sb, Ser*) показано, что при обработке Hoeschst33342 увеличения опухолевых клонов практически не наблюдалось (в то время как при обработке линии дрозофилы без балансера частота возникновения опухолевых клонов составляла 11,9 %).

В другом использованном нами варианте SMART активация соматической гомологической рекомбинации была снижена за счет мутации в гене *RecQ*-хеликазы *dmBLM*. При введении мутации по данному гену частота спонтанного мозаицизма незначительно увеличилась. В наших экспериментах частота возникновения опухолевых клонов при действии алкилирующего агента (оксоплатин) возросла в 19 раз в сравнении с частотой спонтанного мозаицизма у этой же линии (89,95 % и 4,8 %) и в 3 раза при сравнении с частотой индуцированного оксоплатином мозаицизма у линии без мутации в гене *RecQ*-хеликазы (89,95 % против

31,9 %). При действии Hoeschst33342 частота появления клонов возросла с 4,80 % до 6,75 % (статистически незначимо).

Полученные данные свидетельствуют о преимущественно рекомбиногенном механизме бластомогенной активности Hoeschst33342.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проект № 15-04-09216А).*

## **Возможная роль полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков в патогенезе Rh-негативных миелопролиферативных новообразований**

**В.А. Овсепян, Е.В. Трегубова,  
А.С. Лучинин, С.В. Самарина**

*ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови ФМБА России»*

**Введение.** Классические Rh-негативные миелопролиферативные новообразования (МПН), к которым относятся истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия и первичный миелофиброз, представляют собой клональные заболевания, характеризующиеся пролиферацией одной или более клеточной линии миелопоэза в костном мозге с признаками сохраняющейся терминальной дифференцировки и, как правило, сопровождаются изменениями показателей крови. Патогенез указанных Rh-негативных МПН обусловлен главным образом приобретенными мутациями генов *JAK2* (*V617F* и экзон 12), *MPL* и *CARL*, наблюдаемыми примерно у 90 % больных. В то же время в последние годы появляется все больше данных, указывающих на то, что определенный вклад в патогенез

злокачественных новообразований могут вносить также конституциональные особенности генома, в частности полиморфизм генов биотрансформации ксенобиотиков, участвующих в детоксикации широкого круга экзогенных и эндогенных веществ, способных повредить клеточный геном.

**Задачи исследования.** Анализ возможной ассоциации полиморфизмов генов 2-й фазы биотрансформации ксенобиотиков *GSTM1* (large deletion), *GSTT1* (large deletion), *GSTP1* (rs1695 A>G) и *NQO1* (rs1800566 609C>T) с риском развития МПН.

**Материалы и методы.** Материалом для исследования полиморфизмов послужила ДНК, выделенная из лейкоцитов венозной крови 606 больных МПН и 316 практически здоровых лиц. Генотипирование делеционного («нулевого») полиморфизма генов *GSTM1* и *GSTT1* проводили методом мультиплексной ПЦР, полиморфного локуса rs1695 A>G гена *GSTP1* – методом ПЦР с последующим анализом полиморфизма длины рестрикционных фрагментов, а полиморфного локуса rs1800566 609C>T гена *NQO1* – методом одноэтапной 3-праймерной ARMS-ПЦР (ARMS – amplification refractory mutation system).

**Результаты.** Установлено, что гомозиготное носительство делеционного аллеля *GSTT1* повышает риск развития МПН (ОШ 1,5; 95 % ДИ 1,06–2,16;  $p = 0,02$ ). Кроме того, выявлено, что риск заболевания увеличивается также при носительстве аллеля 609T гена *NQO1* (ОШ 1,41; 95 % ДИ 1,07–1,85;  $p = 0,02$ ). В то же время не обнаружено влияния полиморфизмов генов *GSTM1* и *GSTP1* на развитие МПН. Возможная патогенетическая роль полиморфизмов генов *GSTT1* и *NQO1*, связанных с подавлением активности соответствующих ферментов, скорее всего, обусловлена ухудшением детоксикации экзогенных и эндогенных мутагенов.

**Выводы.** Таким образом, впервые в российской популяции выявлены генетические маркеры развития Rh-негативных МПН, являющиеся полиморфными вариантами генов *GSTT1* и *NQO1*.

## СЕКЦИЯ II

ГЕНОМИКА И ЭПИГЕНОМИКА  
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

## Доклады

Роль клеточных микроРНК  
в регуляции экспрессии  
генов вируса папилломы человека  
16-го типа

Н.В. Говердовская, Н.П. Киселёва, М.Д. Фёдорова,  
А.Н. Катаргин, Д.С. Елкин, П.М. Абрамов,  
А.Э. Миннегалиева, Л.С. Павлова, С.В. Винокурова  
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** Длительно персистирующая инфекция, вызванная ВПЧ высокого канцерогенного риска, может привести к развитию рака шейки матки, а также некоторых опухолей ротоглотки и аногенитальной области. Экспрессия вирусных онкогенов *E6* и *E7* является ключевым этапом в инициации трансформации плоскоклеточного эпителия и прогрессии опухоли. Однако молекулярные механизмы регуляции данного процесса недостаточно изучены.

**Задачи исследования.** Изучение роли клеточных микроРНК в регуляции экспрессии вирусных онкогенов ВПЧ 16-го типа.

**Материалы и методы.** Для исследования дифференциальной экспрессии микроРНК в клинических образцах карцином шейки матки, полученных с помощью микродиссекции, использовался метод глубокого секвенирования нового поколения. Данные секвенирования подтверждались количественной ПЦР в реальном времени. При помощи сервиса RegRNA 2.0 осуществлялся поиск участков взаимодействия микроРНК с матричной РНК вирусных генов и регуляторного участка ВПЧ 16-го типа. Анализ экспрессии вирусных генов проводился на клеточных линиях рака шейки матки. После трансфекции синтетических аналогов микроРНК в клеточную линию SiHa, содержащую геном ВПЧ 16-го типа, оценивался уровень экспрессии вирусных онкогенов *E6* и *E7* методом количественной ПЦР.

**Результаты.** С помощью метода множественного параллельного секвенирования идентифицированы 52 клеточных микроРНК с измененным уровнем экспрессии в клинических образцах рака шейки матки различных стадий. Среди них выявлено 15 зрелых форм микроРНК, потенциально имеющих 19 сайтов связывания в геноме ВПЧ 16-го типа, включая вирусные онкогены *E6* и *E7*, гены, вовлеченные в репликацию (*E1* и *E2*), а также регуляторную область, контролирующую экспрессию ранних генов. Независимой количественной ПЦР подтверждены данные секвенирования для 5 микроРНК. Четыре микроРНК (miR-135a, -135b, -196 и -224), потенциальной мишенью которых являлась открытая рамка считывания (open reading frame, ORF) *E6*, показали статистически значимое снижение экспрессии матричной РНК *E6*; a miR-106, потенциальной мишенью которой является ORF *E7*, не оказывала влияния на экспрессию матричной РНК *E7*.

**Выводы.** Впервые показано, что клеточные микроРНК miR-135a, -135b, -196a и -224 негативно регулируют экспрессию вирусного онкогена *E6* ВПЧ 16-го типа. Эти данные позволяют предположить, что эпигенетические механизмы играют существенную роль в регуляции вируса папилломы человека.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 15-15-00125).*

Дуплексы микроРНК  
как один из механизмов  
селективного отбора микроРНК

С.А. Кузьмичев, В.Н. Аушев  
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** Распределение различных микроРНК между ядром и цитоплазмой клеток имеет ключевое значение для микроРНК-опосредованной сиквенс-

специфической регуляции процессов трансляции, а также транскрипции ряда генов и процессинга некоторых пре-микроРНК. Селективный отбор микроРНК, способных проявлять свойства онкогенов и онкосупрессоров, происходит несколькими путями. Часть микроРНК может выводиться из клеток, например, в микровезикулах, или деградировать при отсутствии к ним комплементарных антисмысловых последовательностей. Одним из механизмов, ограничивающих доступ микроРНК к их мишеням, может служить образование дуплексов из комплементарных микроРНК.

**Задачи исследования.** Изучение влияния способности микроРНК образовывать высокоэнергетические и низкоэнергетические дуплексы, отличающиеся минимальной свободной энергией гибридизации (minimum free energy, MFE), на распределение микроРНК между ядром и цитоплазмой.

**Материалы и методы.** Для анализа использовались последовательности микроРНК из базы miRBase, 21 версия (<http://www.mirbase.org>). Биоинформатическое сканирование различных микроРНК для поиска молекул, способных образовывать дуплексы микроРНК, проводилось с помощью программ RegRNA 2.0 (<http://regna.mbc.nctu.edu.tw>) и RNAup (<http://regna.mbc.nctu.edu.tw>). Данные о содержании микроРНК в ядре и в цитоплазме были взяты из ранее опубликованных работ для различных типов клеток: линии 5-8F назофарингеальной карциномы человека (исследовано 339 микроРНК с ядерной локализацией и 324 с цитоплазматической), миелоцитов и гранулоцитов мыши (исследовано 314 микроРНК).

**Результаты.** С помощью анализа структуры микроРНК была рассчитана MFE для высоко- и низкоэнергетических дуплексов. Выявлена зависимость между структурой микроРНК, определяющей их способность к образованию высокоэнергетических дуплексов, и соотношением количества микроРНК в ядре и цитоплазме. Показано статистически значимое ( $p < 0,0003$ ) обогащение ядерного пула микроРНК молекулами, способными к образованию низкоэнергетических дуплексов. Таким образом, MFE ассоциирована с внутриклеточной локализацией микроРНК. При этом влияние некоторых коротких мотивов на 3'-концах ряда микроРНК, которые могут быть, по данным литературы, ассоциированы с ядерной локализацией (UGUGUU, ACUGUU, AGAGUU, AGUCUU, AGUGAU, AGUGUA, AGUGUU, GGAG), для микроРНК, способных к образованию высокоэнергетических дуплексов, на соотношение количества ядерных и цитоплазматических микроРНК не выявлено.

**Выводы.** Показана зависимость распределения микроРНК между ядром и цитоплазмой от значения MFE, которая указывает на наличие новых механизмов регуляции активности микроРНК в клетках, что может иметь большое значение при прогнозировании их действия на возможные мишени.

## Диагностическая и прогностическая роль микроРНК при хроническом миелоидном лейкозе

А.В. Лавров<sup>1,2</sup>, Э.П. Адильгереева<sup>1</sup>, С.А. Смирнихина<sup>1</sup>,  
Е.Ю. Чельшева<sup>3</sup>, О.А. Шухов<sup>3</sup>, Г.А. Цаур<sup>4,5</sup>,  
А.Г. Туркина<sup>3</sup>, С.И. Кучев<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва;

<sup>3</sup>ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, Москва;

<sup>4</sup>ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница № 1», Екатеринбург;

<sup>5</sup>ГБУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург

**Введение.** Причиной развития хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ) является транслокация t(9;22)(q34;q11.2) в стволовой гемопоэтической клетке, которая приводит к образованию химерного гена *BCR-ABL*. Непрерывно синтезируемый белок BCR-ABL является неспецифической тирозинкиназой, активирующей путь MAPK. Последний, в свою очередь, обеспечивает неконтролируемое клеточное деление, блок апоптоза. Таргетная терапия специфическими ингибиторами тирозинкиназ позволяет достигать ремиссии в подавляющем большинстве случаев ХМЛ, однако скорость и глубина ответа на терапию являются неудовлетворительными примерно у 10–25 % пациентов. Причины различного ответа на терапию неизвестны. МикроРНК являются важными регуляторами активности генов, чья экспрессия изменяется при многих опухолевых заболеваниях. При ХМЛ также показано участие микроРНК в патогенезе заболевания, но их роль в формировании различий ответа на терапию остается неизученной.

**Задачи исследования.** Поиск возможных прогностических маркеров различий ответа на терапию специфическими ингибиторами тирозинкиназ.

**Материалы и методы.** Проведено исследование экспрессии 800 микроРНК в образцах крови, взятых у больных ХМЛ до начала терапии ингибиторами тирозинкиназ. Больных разделили на две группы по эффективности 6-месячной терапии, следуя критериям ELN 2013. Экспрессионный анализ проведен на платформе Nanostring (Nanostring Technologies, США).

**Результаты.** Дисперсионный анализ с поправкой на множественные сравнения не выявил различий в экспрессии микроРНК. Однако были отобраны 17 микроРНК с дифференциальной экспрессией в двух группах больных ( $p < 0,05$ ). Наибольшая разница экспрессии (в 26 раз) показана для hsa-miR-4286. Оценку функциональной роли различий в экспрессии микроРНК провели с применением программного обеспечения DIANA tools. Данный пакет программ позволяет проанализировать взаимосвязи генов, регулируемых отобранными микроРНК. В результате анализа

выявлено 40 путей базы KEGG, обогащенных генами, регулируемые данными 17 микроРНК. Среди путей наиболее значимо ( $p = 9,5 \times 10^{-14}$ ) обогащен путь «пути при раке» (hsa05200), в котором 27 генов взаимодействуют с 7 из 17 микроРНК. Также обогащены пути «хронический миелоидный лейкоз» (hsa05220) ( $p = 0,00018$ ), в котором 8 генов взаимодействуют с 4 микроРНК, и «острый миелоидный лейкоз» (hsa05221) ( $p = 0,04$ ), в котором 4 гена регулируются 3 микроРНК.

**Выводы.** Дифференциальная экспрессия микроРНК может лечь в основу разработки прогностического теста для раннего предсказания ответа на таргетную терапию ХМЛ и своевременной корректировки лечения выбором дозы и/или линии терапии ингибиторами тирозинкиназ.

## Мутации и полиморфизм гена *PDGFRA* в метастатической меланоме

Н. Н. Мазуренко, И. В. Цыганова, О. А. Анурова, А. А. Лушников, А. И. Сендерович, И. Н. Михайлова

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, Москва

**Введение.** Для меланомы характерны клиничко-морфологическая гетерогенность и широкий спектр молекулярно-генетических нарушений. Наименее изучены меланомы с отсутствием мутаций в генах *BRAF*, *NRAS* или *KIT*. Отдельную группу составляют редкие метастатические меланомы, которые характеризуются дивергентной дифференцировкой и потерей дифференцировочных маркеров (A. Agaimy et al., 2016). Такие меланомы имеют необычный фенотип, что требует углубленной дифференциальной диагностики со сходными по морфологии немеланоцитарными опухолями, например саркомами.

**Задачи исследования.** Анализ мутаций *BRAF*, *NRAS*, *KIT*, *PDGFRA* в образцах метастатической меланомы.

**Материалы и методы.** В исследование вошли 13 опухолей с первичным диагнозом саркомы либо лимфомы, которые представляли собой крупные узловое новообразования в мягких тканях в области спины, нижней конечности или головы. При верификации диагностирована дедифференцированная меланома или метастаз меланомы. Диагноз поставлен после иммуногистохимического исследования, показавшего слабopоложительные реакции на S100, HMB 45, Melan A, MITF, тирозиназу. Контрольную группу составили 27 из ранее изученных 203 образцов меланомы, большинство которых были беспигментными, без выявленного первичного очага и не содержали мутации *BRAF*, *NRAS*, *KIT* (Н. Н. Мазуренко и др., 2015, 2017).

**Результаты.** Опухоли были охарактеризованы на наличие мутаций *BRAF*, *NRAS*, *KIT* и *PDGFRA*. В 2 (15 %) из 13 случаев метастатической меланомы обнаружены мутации в экзонах 12 или 18 *PDGFRA* (R558C

и S847L), причем у пациента с мутацией S847L выявлена также мутация V600E *BRAF*. В контрольных образцах меланомы кожи мутации *PDGFRA* отсутствовали. Кроме того, обнаружен геномный полиморфизм rs2228230 (2472C>T, pV824) в экзоне 18 *PDGFRA* в 6 (49 %) из 13 образцов метастатической меланомы, причем в 2 выявлена мутация V600E *BRAF*. В контрольной группе частота полиморфизма rs2228230 составила 11 %, что соответствует популяционной частоте для европеоидов.

**Выводы.** При исследовании метастатической меланомы выявлены мутации *PDGFRA* (15 %) и впервые обнаружено повышение частоты полиморфизма rs2228230 *PDGFRA* ( $p = 0,038$ ). Можно полагать, что мутации и высокая частота геномного полиморфизма *PDGFRA* характерны для метастатической дедифференцированной меланомы. Для подтверждения выдвинутых предположений необходимо увеличить число исследуемых опухолей, которые, однако, встречаются крайне редко.

## Ингибирование взаимодействий между онкогеном *MYC* и факторами, ремоделирующими хроматин, как новая стратегия в лечении меланомы

Н. В. Сошникова

ФГБУ «Институт биологии гена» РАН, Москва

Злокачественная меланома — один из наиболее агрессивных типов онкологических заболеваний. Прогрессия меланомы и поздние стадии других новообразований часто ассоциированы с гиперэкспрессией онкобелка *MYC*. Гиперэкспрессия *MYC* как транскрипционного активатора приводит к нарушениям регуляции широкого спектра генов, в том числе и генов пролиферации клеток. Активный *MYC* замещает Mad и образует комплекс с белком Max, что, в свою очередь, приводит к привлечению комплексов транскрипционной машины на промоторы генов и активации их транскрипции. Одним из комплексов, способствующих активации транскрипции, является мультисубъединичный комплекс PBAF, ремоделирующий хроматин. Мутации в генах субъединиц ремоделирующего хроматин-комплекса PBAF часто происходят при злокачественной трансформации, что сопровождается более тяжелым клиническим течением и усложняет подходы к лечению. По нашим предварительным данным, C—*MYC* взаимодействует с субъединицей PBAF комплекса PNF10, что может опосредовать C—*MYC*-зависимую активацию транскрипции и последующие процессы, поддерживающие или ускоряющие пролиферацию клеток — важнейший признак трансформированного фенотипа.

Наша работа направлена на изучение взаимодействия между онкогеном MYC и ремоделирующим комплексом PBAF, которое может быть одним из механизмов, приводящих к онкотрансформации клеток. В рамках данной работы мы изучаем возможности химического соединения AM7 в разобщении взаимодействия между онкогеном MYC и комплексом PBAF для потенциального применения в клинической практике как средства лечения меланом, характеризующихся повышенной экспрессией MYC и PNF10.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 1754–33031).

## Молекулярно-генетическая диагностика рака щитовидной железы методом массивного параллельного таргетного секвенирования

В.Д. Якушина<sup>1</sup>, Т.П. Казубская<sup>2</sup>, Т.Т. Кондратьева<sup>3</sup>, Л.В. Лернер<sup>3</sup>, А.В. Лавров<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва;

<sup>3</sup>ООО «ПреМед», Москва;

<sup>4</sup>ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

**Введение.** Цитологическое исследование, используемое в настоящее время для диагностики рака щитовидной железы на дооперационном этапе, характеризуется высокой частотой неопределенных заключений, что ведет к необоснованной тиреоидэктомии. Кроме того, актуален вопрос прогнозирования течения заболевания и выбора стратегии ведения пациента.

**Задачи исследования.** Разработать метод молекулярно-генетической диагностики рака щитовидной железы различных гистологических подтипов на основе массивного параллельного таргетного секвенирования.

**Материалы и методы.** В результате анализа литературы и базы данных COSMIC отобраны соматические и герминативные мутации, характерные для рака щитовидной железы, включая папиллярный, фолликулярный, низкодифференцированный, анапластиче-

ский и медуллярный. Дизайн праймеров выполнен с помощью AmpliSeq Designer v5.4.1, для определения CNV-мутаций добавлены 20 ампликонов на каждый CNV. Тестирование панели на точечные мутации и CNV проведено на клеточных линиях SW620, MCF, HT29, K562; клиническом материале рака щитовидной железы (13 образцов папиллярного рака, 1 образец фолликулярного рака) и нормальной ткани щитовидной железы (11 образцов). Секвенирование осуществлено на платформах Ion PGM™ и Ion S5™. Для оценки аналитической чувствительности метода выполнен анализ образцов ДНК нормальной ткани, не несущей патогенные мутации, с внесенной ДНК клеточной линии SW620 в доле 0,1; 0,05; 0,03; 0,01; 0,005.

**Результаты.** Получены дизайны панелей праймеров: на точечные мутации и CNV (221 пара праймеров в 2 пулах, длина ампликонов 125–375 п. н., покрытие отобранных мутаций 99,59 %); на генные перестройки (37 пар праймеров, включая 12 пар на экспрессию генов). Разработанные панели позволяют анализировать точечные мутации в 25 генах (около 450 мутаций), 3 CNV-мутации (SCNA-22q-del, 9q21.3-q32-del, 1q gain) и 25 генных перестроек.

В образцах клеточных линий определены таргетные варианты, соответствующие данным Cancer Cell Line Encyclopedia: APC p. Q1338\* и KRAS p. G12V – в SW620; PIK3CA p. E545K – в MCF7. В образцах рака щитовидной железы определена мутация BRAF p. V600E (в 5 образцах); генные перестройки ETV6-NTRK3, PAX8-PPARG, NCOA4-RET; в 1 образце генная перестройка ETV6-NTRK3 сопровождалась мутацией IDH1 p. V178I. В 2 из 11 образцов нормальной ткани выявлена мутация BRAF V600E (аллельная частота 2,9 и 4,9 %), в 1 образце – перестройка TPM3-NTRK1, в остальных образцах патогенных мутаций не выявлено.

Минимальная доля мутантной аллели, определяемой с помощью панели, составила 0,01–0,03.

**Выводы.** Разработана таргетная панель для определения точечных мутаций, вариаций копийности и генных перестроек при папиллярном, фолликулярном, анапластическом и медуллярном раке методом высокопроизводительного секвенирования. Разработанная таргетная панель позволила корректно идентифицировать патогенные варианты в образцах клеточных линий и рака щитовидной железы; аналитическая чувствительность соответствует 1–3 %.

## Постеры

### Структурные изменения в гене-супрессоре *VHL* при светлоклеточном раке почки

А.В. Балбуцкий, С.Д. Бежанова, А.А. Лушникова  
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** Светлоклеточный рак почки (СРП) — наиболее частая (>70 %) форма рака почки, занимающего 2-е место среди онкоурологических заболеваний. Молекулярно-направленная терапия СРП — актуальная проблема современной онкологии ввиду резистентности заболевания к большинству методов лечения. Ген *VHL* локализован на хромосоме 3p, и его инактивация вследствие различных структурных нарушений — один из ключевых механизмов патогенеза СРП. Предварительное исследование перевиваемой линии КК Рпоч1, полученной от пациента с СРП, выявило мутацию в экзоне 1 гена *VHL* и мутацию в комбинации с 2 полиморфизмами в гене *TP53*, а также не менее 10 клонов клеток с различными модальными кариотипами. Это обуславливает высокую генетическую гетерогенность СРП и неэффективность стандартной ХТ заболевания.

**Задачи исследования.** Анализ частоты различных мутаций гена-супрессора *VHL*, белковый продукт которого контролирует убиквитинзависимый протеолиз HIF (hypoxia-inducible factor), стимулирующего пролиферацию клеток, в опухолях и нормальной ткани больных СРП.

**Материалы и методы.** Изучили 40 образцов геномной ДНК, полученных из опухолевой ткани, гистологически верифицированной как СРП, и 20 образцов нормальной ткани почки этих же пациентов. Изменения во всех экзонах гена *VHL* определяли методом ПЦР с последующим двусторонним прямым секвенированием по Саузерну. Результаты сравнивали с анамнестическими данными соответствующих пациентов.

**Результаты.** В гене *VHL* обнаружены однонуклеотидные замены (45,0 %), делеции (18,5 %), инсерции (10,5 %) и сочетания нескольких структурных изменений (16 %), приводящие к сдвигу рамки считывания и к нарушению транскрипции, 6,8 % из них — в сайтах сплайсинга. В экзоне 1 *VHL* выявлено 56 % всех изменений, в экзонах 2 и 3 они встречались с сопоставимой частотой — 25 % против 19 %. В нормальной ткани мутаций не зафиксировано. Обсуждается функциональная значимость обнаруженных в опухолях изменений гена *VHL*, так как более 40 % из них затрагивают домены связывания с регуляторными белками.

**Выводы.** В клинических образцах СРП выявлены различные по структуре и локализации изменения гена *VHL* с преобладанием однонуклеотидных полиморфизмов и функционально значимых мутаций в экзоне 1.

### Анализ экспрессии 758 микроРНК при светлоклеточном раке почки

И.Р. Гилязова<sup>1,2</sup>, Е.А. Климентова<sup>1</sup>, А.А. Измайлов<sup>2</sup>,  
И.М. Султанов<sup>2</sup>, М.А. Бермишева<sup>1</sup>, В.Н. Павлов<sup>2</sup>,  
Э.К. Хуснутдинова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт биохимии и генетики» УНЦ РАН, Уфа;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа

**Введение.** Рак почки — гетерогенная группа злокачественных опухолей, подавляющее большинство которых представляют собой почечно-клеточные карциномы различных морфологических типов. Одним из ключевых звеньев злокачественного процесса при раке почки является аномальное функционирование и изменение профиля экспрессии микроРНК.

**Задачи исследования.** Определить дифференциально экспрессированные микроРНК в тканях опухоли почки по сравнению с нормальной тканью.

**Материалы и методы.** Исследованы 6 образцов нормальной почечной паренхимы и 18 образцов опухолевой ткани почки с гистологической верификацией морфологии ткани и диагнозом «светлоклеточный рак почки», полученных в ходе нефрэктомии. Все пациенты имели III стадию заболевания. Анализ экспрессии 758 зрелых микроРНК осуществляли с помощью технологии OpenArray на приборе QuantStudio 12K Flex Real-Time PCR System.

**Результаты.** После введения поправки на множественные сравнения (FDR) обнаружена повышенная экспрессия микроРНК-210 и микроРНК-642 в образцах опухолей почки. Согласно данным литературы, микроРНК-210 дифференциально экспрессирована при нескольких типах рака. В исследованиях описаны различные гены, являющиеся мишенями данной микроРНК, причем часто они так или иначе связаны с гипоксией. Ген *GPD1L*, кодирующий глицерол-3-фосфат-дегидрогеназу, непосредственно регулируется микроРНК-210 в условиях гипоксии. При нормальном уровне кислорода содержание HIF-1 $\alpha$  остается низким вследствие гидроксирования пролина и последующей деградации в протеосомах. В случае снижения уровня кислорода содержание белка HIF-1 $\alpha$  и транскрипционная активность повышаются, вызывая накопление микроРНК-210 (Zhang Y. et al., 2012;

Muralimanoharan S. et al., 2012). Увеличение микроРНК-210 ведет к уменьшению содержания белка GPD1L и дальнейшей инактивации пролилгидроксилаз, что обуславливает накопление HIF-1 $\alpha$ , а повышение содержания GPD1L вызывает снижение стабильности HIF-1 $\alpha$  (L. Anton et al., 2013).

**Выводы.** Полученные результаты вносят вклад в понимание биологии процессов канцерогенеза и могут быть полезными для разработке систем маркеров диагностики и прогноза течения заболевания.

## Экспрессия мРНК генов химиочувствительности как индикатор эффекта неоадьювантной химиотерапии при немелкоклеточном раке легкого

И.В. Дерюшева, Е.О. Родионов, М.К. Ибрагимова, М.М. Цыганов, С.В. Миллер, Н.В. Литвяков  
НИИ онкологии ФГБНУ «Томский НИМЦ РАН»

**Введение.** В среднем частота объективного ответа на неоадьювантную химиотерапию (НХТ) при лечении больных немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) составляет 16 %. В этой связи актуальным и перспективным является поиск новых предсказательных критериев, основанных на экспрессии генов химиочувствительности, поскольку их уровень патофизиологически связан с ответом на тот или иной препарат посредством участия в его метаболизме в клетках опухоли, трансмембранном транспорте, взаимодействии с мишенью, а также механизмах реализации апоптоза и репарации.

**Задачи исследования.** Изучение связи уровня экспрессии генов химиочувствительности с эффективностью НХТ у больных НМРЛ.

**Материалы и методы.** В исследование включены 30 больных НМРЛ IIА–IIIВ стадии. Из биопсийного материала нормальной и опухолевой тканей легкого до НХТ выделяли РНК. Уровень экспрессии генов химиочувствительности *BRCA1*, *RRM1*, *ERCC1*, *TOP1*, *TOP2a*, *TUBB3*, *TYMS*, *GSTP1* оценивали при помощи количественной ПЦР с обратной транскриптазой в режиме реального времени.

**Результаты.** Анализ показателей экспрессии изучаемых генов позволил установить статистически значимые различия между группами больных с разным эффектом НХТ. В 67 % случаев (10 из 15) отсутствие экспрессии *ERCC1* обуславливает наличие объективного ответа на лечение (различия с группой, где экспрессия присутствует, статистически значимы,  $p < 0,05$ ). Наличие низкого (менее 0,2) и высокого (более 1,2) уровня экспрессии *BRCA1* сопряжено с более низкими показателями эффективности НХТ по сравнению с группой больных, у которых уровень экспрессии находился в пределах нижней и верхней границы терти-

лей. Также статистически значимые различия были обнаружены для генов *GSTP1* и *RRM1*.

**Выводы.** Комплексная оценка экспрессии генов химиочувствительности важна не только с точки зрения понимания неоднородности и сложности в области молекулярной биологии НМРЛ, но и для более точного прогнозирования эффекта НХТ и течения заболевания, а также обнаружения потенциальных мишеней для лекарственных средств.

## Исследование инактивации гена *VHL* как основного патогенетического фактора метастазирования светлоклеточного рака почки

С.В. Женило<sup>1</sup>, А.В. Артемов<sup>1</sup>, А.К. Ю. Масленникова, Д.С. Каплун<sup>1</sup>, А.М. Мазур, Н.А. Жигалова<sup>1</sup>, Е.Б. Прохорчук<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биоинженерии ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва

**Введение.** В общей структуре онкологической заболеваемости в России за 2015 г. рак почки занимает 10-е место (3,9 %). Абсолютное число впервые установленных диагнозов за 2015 г. составило 12 518. Примерно у 1/3 больных к моменту постановки диагноза выявляются отдаленные метастазы, при этом 5-летняя выживаемость не превышает 5 %. Наиболее распространенным является почечно-клеточный рак, на долю которого приходится до 90 % всех случаев. В 46–82 % случаев его агрессивное метастазирование связывают с мутациями гена von Hippel-Lindau tumor suppressor (*VHL*). В норме фактор *VHL*, связываясь с гидроксированными белками HIF, участвует в их убиквитинировании и последующей деградации. Отсутствие *VHL* приводит к стабилизации HIF-1 $\alpha$  при нормальных условиях и к активации генов-мишеней HIF-1 $\alpha$ , в том числе генов, отвечающих на гипоксию.

**Задачи исследования.** Выявление механизмов изменения уровня метилирования ДНК, лежащих в основе перехода раковых клеток из неметастазирующих в метастазирующие, и изучение обратимости данного процесса.

**Материалы и методы.** Использована клеточная линия мелкоклеточного рака почки Sakil с интактным геном *VHL*. С помощью геномного редактирования CRISPR/Cas9 мы внесли мутацию в С-концевой домен *VHL*, которая приводила к разрушению  $\alpha$ -спирали. Для статистической достоверности было получено несколько клонов.

**Результаты.** Анализ ядерных экстрактов подтвердил, что мутация в гене *VHL* обуславливает стабилизацию HIF-1 $\alpha$  и увеличение экспрессии генов ответа на гипоксию, генов-мишеней HIF-1 $\alpha$  и генов, участвующих в гликолизе. В клетках с мутантным *VHL*

наблюдается увеличение уровня метилирования, в том числе регуляторных элементов нескольких транскрипционных факторов, что ассоциировано со снижением их транскрипции. Анализ пролиферации клеток выявил, что инактивация гена *VHL* приводит к увеличению жизнеспособности клеток после достижения монослоя, в отличие от раковых клеток с нормальным *VHL*. Для изучения обратимости процессов, наблюдаемых при инактивации *VHL*, с помощью стабильной трансфекции мы получили клеточные линии с восстановленным уровнем нормального *VHL*. В этих клетках обнаружена деградация HIF-1 $\alpha$  и снижение экспрессии его генов-мишеней.

**Выводы.** Сравнительный анализ метилома клеток с инактивированным и восстановленным геном *VHL* позволит найти новые потенциальные мишени для противометастазной терапии.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 14-14-01202).*

## Семейная агрегация злокачественных лимфом

Д.А. Звягинцева, С.А. Кулева, Г.А. Янус, Е.Н. Суспицын, Н.Д. Фасеева, Е.Н. Имянитов, Т.Ю. Семиглазова

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова»  
Минздрава России, Санкт-Петербург

**Введение.** Известно, что семейная агрегация злокачественных лимфом встречается достаточно редко и составляет всего 0,7–3,0 % случаев. Наиболее высокая частота возникновения в 1 семье неходжкинских лимфом и лимфомы Ходжкина, особенно в парах родитель – ребенок и брат – сестра. В литературе лимфому Ходжкина ассоциируют с наличием инактивирующих мутаций в гене *KLHDC8B*, который является одним из многих генов, обеспечивающих митоз; его дисфункция, вероятно, приводит к появлению двуядерных клеток. Важно, что хромосомная перестройка напрямую затрагивает ген *KLHDC8B*, но косвенно могут быть вовлечены и другие гены. Кроме «полноценной» инактивирующей мутации существует редкий полиморфизм, с большей частотой встречающийся у больных, чем у здоровых.

**Задачи исследования.** Изучить семейную агрегацию злокачественных лимфом у больных лимфомой Ходжкина.

**Материалы и методы.** Среди детей и подростков с лимфомой Ходжкина ( $n = 143$ ), прошедших лечение с 1993 по 2015 г. в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова, выявлено 3 (2 %) случая семейной агрегации злокачественных лимфом. В 2 семьях зафиксировано возникновение лимфомы Ходжкина в парах родитель – ребенок, в 3-м случае в паре сестер диагностирована лимфома Ходжкина и В-крупноклеточная медиастинальная неходжкинская лимфома. У всех пациентов

с семейной агрегацией лимфом проведен анализ последовательности ДНК-киназного домена гена *KDR* (или *VGFR2*) и всей кодирующей последовательности ДНК гена *KLHDC8B*.

**Результаты.** При молекулярном исследовании мутаций в гене *KLHDC8B* не обнаружено. В 1 наблюдении в паре родитель – ребенок был найден редкий вариант мутации в гене *KDR* – с. 3397C>T (р. P1133S). Согласно базе данных EXAC, этот вариант (rs192975612 в базе dbSNP) имеет популяционную частоту 0,000368, т. е. гетерозиготные носители мутации встречаются с частотой 1:1359. По данным биоинформатических «предсказательных» программ SIFT (учитывает эволюционную консервативность, сохранность аминокислоты в последовательности белка в ряду животных: более стойкие аминокислоты важнее, часто меняющиеся не важны), deleterious; PolyPhen2 (учитывает консервативность и моделирование изменения конформации белка от замены аминокислоты) статистическая оценка сходства белковых доменов составляет 0,734 – probably pathogenic (0 – достоверно непатогенная, 1 – патогенная), что подтверждает значимость данной мутации. CADD score равен 24,1 (довольно высокий уровень вероятности того, что мутация значима). Группой контроля в этом исследовании стали 833 здоровых донора из коллекции лаборатории молекулярной диагностики, генотипирование которых не выявило мутаций.

**Выводы.** Все родственники больного, особенно это касается сиблингов и родителей, подлежат тщательному молекулярно-генетическому исследованию с целью поиска герминальной мутации в гене *KDR*, с.3397C>T (р. P1133S), ассоциированной с повышенным риском возникновения лимфомы Ходжкина.

## Метастатические клоны опухоли молочной железы

М.К. Ибрагимова<sup>1,2</sup>, М.М. Цыганов<sup>1,2</sup>, Е.М. Слонимская<sup>1</sup>, Н.В. Литвяков<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> НИИ онкологии ФГБНУ «Томский НИМЦ РАН»;

<sup>2</sup> Национальный исследовательский Томский государственный университет

**Введение.** Результаты предыдущих исследований показали, что при проведении неоадьювантной химиотерапии (НХТ) под влиянием химиопрепаратов происходит клональная эволюция опухоли, т. е. изменение опухолевых клонов – полное или частичное исчезновение или появление новых клонов. Новые клоны, образованные под действием НХТ, содержат амплификации в следующих локусах: 5p, 6p, 7q, 8q, 13q, 9p, 9q, 10p, 10q21.1, 16p, 19p, 18chr.

**Задачи исследования.** Оценить эффективность НХТ и 2-летнюю безметастатическую выживаемость больных раком молочной железы на основе изучения наличия клонов с амплификациями в данных хромосомных регионах в первичной опухоли больных.

**Материалы и методы.** Исследованы образцы биопсийного материала до лечения. Наличие амплификаций 5p, 6p, 7q, 8q, 13q, 9p, 9q, 10p, 10q21.1, 16p, 19p, 18chr определялось с использованием микроматрицы CytoScan HD Array (Affymetrix, США). Сформировано 3 группы пациентов. В 1-ю группу вошли больные, в опухолях которых определялось наличие любых 2 амплификаций; им назначалась персонализированная НХТ (в соответствии с патентом RU 2594251). Во 2-ю группу включены пациенты, у которых изначально в опухоли число клонов составило 0–1; их лечение начинали с оперативного этапа. У пациентов 3-й группы, также исходно имевших 0–1 клон, лечение начинали с персонализированной НХТ. Остальные этапы лечения были стандартными.

**Результаты.** У 86 % пациентов 1-й группы ( $n = 29$ ) достигнута полная или частичная регрессия после проведения НХТ, 2-летняя выживаемость составила 97 % (28 из 29). Во 2-й группе выживаемость составила 93 % (13 из 14). В 3-й группе НХТ была эффективна у 84 % (16 из 19), но при этом выживаемость была статистически значимо ниже, чем в 1-й, и составила 68 % (13 из 19;  $p = 0,011$ ). Отталкиваясь от доказательства происхождения опухоли из опухолевых стволовых клеток, нами было выдвинуто предположение о существовании программы соматостволового перехода при возникновении опухолевых клонов.

**Выводы.** Первые полученные результаты свидетельствуют о прогностической значимости наличия в опухоли молочной железы до лечения клонов с амплификациями 5p, 6p, 7q, 8q, 13q, 9p, 9q, 10p, 10q21.1, 16p, 19p, 18chr. Назначение НХТ наиболее целесообразно у пациентов с наличием в первичной опухоли 2 и более амплификаций, в то время как при 0–1 клоне проведение ХТ в предоперационном режиме не показано.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 17-15-01203).*

## Гиперметилируемые гены микроРНК как потенциальные маркеры рака легкого

В.И. Логинов<sup>1</sup>, С.В. Рыков<sup>2</sup>, Д.С. Ходырев<sup>2</sup>, И.В. Пронина<sup>1</sup>, М.В. Фридман<sup>3</sup>, Т.П. Казубская<sup>4</sup>, Э.А. Брага<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», Москва;

<sup>2</sup>НИЦ «Курчатовский институт» — ГосНИИгенетика, Москва;

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова» РАН, Москва;

<sup>4</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

**Введение.** Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) — одна из самых распространенных онкопатологий человека. При обнаружении опухолей легкого на I клинической стадии уровень 5-летней выживаемости

пациентов повышается от 15 до 70 %. В связи с такими данными актуален поиск маркеров для выявления НМРЛ на ранних стадиях.

**Задачи исследования.** Оценить частоту метилирования CpG-островков 14 генов микроРНК как перспективных маркеров НМРЛ.

**Материалы и методы.** Исследованы 50 парных (опухоль / гистологически неизменная ткань) образцов НМРЛ и 20 образцов ткани легкого, взятых в постмортальный период от лиц, не имевших онкологических заболеваний в анамнезе. Анализ метилирования выполняли с помощью метилспецифичной ПЦР. Исследован статус метилирования CpG-островков 14 генов микроРНК.

**Результаты.** Установлены различия между частотами метилирования в образцах опухолей и гистологически нормальной ткани пациентов с НМРЛ для 10 генов (*MIR-9-1*, *-9-3*, *-34b/c*, *-124a-3*, *-125b-1*, *-137*, *-129-2*, *-212*, *-375* и *-1258*); частоты гиперметилирования этих генов при НМРЛ достигают 46–63 %. Данные по гиперметилированию 6 генов (*MIR-125b-1*, *-137*, *-129-2*, *-212*, *-375* и *-1258*) в первичных опухолях легкого получены впервые. Выявлены корреляции частоты метилирования ряда генов микроРНК с прогрессией НМРЛ: *MIR-125b-1*, *-137*, *-124a-3* — со стадией рака и *MIR-125b-1* — с наличием метастазирования. Методом ROC-анализа 4 генов (*MIR-125b-1*, *-137*, *-129-2*, *-375*) определена эффективная система маркеров для диагностики НМРЛ на ранних стадиях с высокой клинической чувствительностью (90 %) и специфичностью (90 %); величина AUC >0,9.

**Выводы.** Новые гиперметилируемые гены микроРНК могут найти применение в качестве потенциальных маркеров для диагностики НМРЛ на ранних стадиях.

## Роль полиморфных маркеров генов MTHFR, MTR и MTRR в увеличении риска развития спорадического рака молочной железы

С.С. Лукина<sup>1,2</sup>, В.О. Варачев<sup>2</sup>, А.С. Шушарин<sup>3</sup>, Т.П. Казубская<sup>4</sup>, А.М. Бурденный<sup>2,5</sup>, В.И. Логинов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», Москва;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва;

<sup>4</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

<sup>5</sup>ФГБУН «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва

**Введение.** Метаболизм фолатов — важное звено в первичном метаболизме клетки. Он является поставщиком одноуглеродных соединений для таких жизненно

важных клеточных процессов, как синтез метионина, биосинтез пуриновых нуклеотидов и превращение уридинмонофосфата в тимидилат, метилирование ДНК и РНК и др. Нарушения генов одноуглеродного обмена могут приводить к развитию различных многофакторных заболеваний, в том числе онкологических.

**Задачи исследования.** Оценить роль полиморфных маркеров генов *MTHFR*, *MTR*, *MTRR* в усилении риска развития рака молочной железы (РМЖ) у пациенток московского региона.

**Материалы и методы.** В исследование включена выборка больных со спорадическим РМЖ (185 образцов) и сопоставимая по возрасту и полу выборка относительно здоровых лиц (185 образцов) без онкологической патологии в анамнезе на момент забора биоматериала.

Образцы ДНК выделяли с помощью стандартной методики с использованием фенолхлороформной экстракции. Анализ полиморфных маркеров *C677T* и *A1298C* гена *MTHFR*, *A2756G* гена *MTR* и *A66G* гена *MTRR* проводили с помощью анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов. При анализе результатов исследования полиморфных маркеров генов одноуглеродного обмена использовали стандартный критерий Стьюдента.

**Результаты.** Нами показана ассоциация генотипа *TT* полиморфного маркера *C677T* гена *MTHFR* (ОШ 2,13; 95 % ДИ 1,12–4,04;  $p = 0,0004$ ) и генотипа *GG* полиморфного маркера *A2756G* гена *MTR* (ОШ 4,21; 95 % ДИ 1,17–15,17;  $p = 0,0007$ ) с риском развития РМЖ у женщин московского региона. Кроме того, выявлена ассоциация предрасполагающего генотипа гена *MTR* с прогрессией опухоли. Статистически значимых результатов для полиморфных маркеров *A1298C* гена *MTHFR* и *A66G* гена *MTRR* найдено не было.

**Выводы.** Полученные результаты свидетельствуют о важной роли гена *MTHFR* и *MTR* в развитии РМЖ.

## Онкогены, гены опухолевых супрессоров и дифференцировочные гены как наиболее древние классы генов человека

А.А. Макашов<sup>1,2</sup>, С.В. Малов<sup>3</sup>, А.П. Козлов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ЧНИУ «Биомедицинский центр», Санкт-Петербург;

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого;

<sup>3</sup> Центр геномной биоинформатики им. Ф.Г. Добржанского, Санкт-Петербургский университет

**Введение.** Ранее мы показали, что человеческий геном содержит много эволюционно новых генов и/или нуклеотидных последовательностей, которые экспрессируются опухолеспецифически либо преимущественно в опухолях. Для подобных генов был предложен

термин *TSEEN* (tumor specifically expressed, evolutionarily new) – эволюционно новые гены с опухолеспецифической экспрессией.

**Задачи исследования.** Изучить эволюционную новизну различных классов опухолеассоциированных генов человека.

**Материалы и методы.** Изучены следующие функциональные классы генов человека: гены домашнего хозяйства, онкогены, дифференцировочные гены, гены опухолевых супрессоров, гомеозисные гены, гены, вовлеченные в апоптоз, гены раково-тестикулярных антигенов, белковые гены и гены некодирующих РНК с высокой опухолеспецифичностью, выявленные нами с помощью метода глобального вычитания *in silico*; все аннотированные кодирующие белок гены человека. Для определения эволюционной новизны вышеперечисленных генов нами применены программы Protein-Historian и HMMER. Ортологи изучаемых генов искали в 26 полногеномных последовательностях зу- и прокариот.

**Результаты.** Для каждого функционального класса генов нами была построена кривая филогенетического распределения их ортологов. Самое верхнее положение на графике заняла кривая, описывающая филогенетическое распределение ортологов генов домашнего хозяйства. Ниже нее расположились кривые филогенетического распределения ортологов онкогенов, генов опухолевых супрессоров и дифференцировочных генов. Эта группа кривых формирует 1-й кластер. Промежуточное положение на графике занимает кривая распределения ортологов всех кодирующих белок генов человека. Под ней располагается 2-й кластер, включающий в себя кривые филогенетического распределения генов апоптоза, гомеозисных генов, опухолевых антигенов и белковых генов, выявленных с помощью глобального вычитания. Самое нижнее положение на графике занимает группа кривых таксономического распределения ортологов генов раково-тестикулярных антигенов и генов некодирующих РНК, выявленных глобальным вычитанием. Эта группа является 3-м кластером, включающим в себя наиболее эволюционно новые гены.

**Выводы.** Нами обнаружено, что различные классы опухолеассоциированных генов обладают различной эволюционной новизной. Мы подтвердили существование генов *TSEEN*. Параллельная эволюция онкогенов, генов-супрессоров опухолей и дифференцировочных генов свидетельствует о роли опухолей в происхождении новых клеточных типов. Разобшенность кривых, принадлежащих к 1-му и 2-му кластерам, свидетельствует о разобшенности процессов образования новых типов клеток и морфогенеза. Различные подклассы генов *TSEEN* принадлежат к вышеописанному 3-му кластеру.

## Влияние энхансер-ассоциированной РНК вируса папилломы человека 16-го типа на вирусную транскрипцию

А.Э. Миннегалиева, П.М. Абрамов, М.Д. Федорова,  
Н.В. Говердовская, Д.С. Елкин, С.В. Винокурова,  
А.Н. Катаргин, Л.С. Павлова, Н.П. Киселева  
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

Длительная персистенция ВПЧ высокого онкогенного риска в эпителии шейки матки ассоциирована с развитием рака. Ключевыми факторами в злокачественной трансформации являются вирусные онкогены *E6* и *E7*. В инфицированном эпителии при осуществлении жизненного цикла вируса оба онкогена находятся под жестким транскрипционным контролем. Утрата транскрипционного контроля приводит к повышению экспрессии онкогенов, что является фактором, направляющим неопластическую трансформацию клеток. Механизм нарушения контроля экспрессии онкогенов недостаточно изучен. Экспрессия онкогенов *E6* и *E7* регулируется частью генома ВПЧ, известной как регуляторный район (upstream regulatory region, URR), который содержит общие для 2 онкогенов промотор и энхансер. Известно, что клеточные энхансеры могут модулировать транскрипцию с помощью длинных некодирующих РНК, транскрибируемых двусторонне с энхансеров РНК-полимеразой II. Методом обратной транскрипции с последующей ПЦР мы идентифицировали сенс и антисенс некодирующих РНК, ассоциированные с районом энхансера в URR ВПЧ 16-го типа в клеточных линиях и в 92 % опухолей шейки матки. Транфекция клеток карцином шейки матки малыми интерферирующими РНК, комплементарными как к сенс-, так и антисенс-транскриптам некодирующих РНК, приводила к статистически значимому снижению уровня некодирующих РНК и подавлению экспрессии онкогенов *E6* и *E7*.

Таким образом, впервые показано существование вирусных длинных некодирующих РНК в районе URR ВПЧ 16-го типа, участвующих в регуляции уровня транскрипции онкогенов, как в клеточных линиях, так и опухолях шейки матки. Обнаруженные эпигенетические регуляторы экспрессии вирусного генома могут служить мишенями для подавления экспрессии вирусных онкогенов.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 15-15-00125).*

## Спектр вариантов последовательности гена *TP53* у женщин с раком молочной железы и без такового из когорты реки Теча

В.П. Пушкарев, А.В. Возилова, В.С. Никифоров,  
Е.В. Киселева

Лаборатория радиационной генетики, ФГБУН УНПЦ  
РМ ФМБА России, Челябинск

**Введение.** Молочные железы у женщин являются наиболее радиочувствительным органом, и воздействие ионизирующей радиации играет важную роль в развитии РМЖ (UNSCEAR, 2000, 2006). Исследование заболеваемости РМЖ среди 10 тыс. женщин когорты р. Теча за 1954–2004 гг. выявило, что около 12 % из 109 наблюдаемых случаев могут быть вызваны ионизирующей радиацией (Е. Ostroumova, 2008). Близнецовое исследование вклада наследственных факторов в риск развития злокачественных новообразований показало статистически значимый эффект для РМЖ (27 %; 95 % ДИ 4–41 %) (Р. Lichtenstein, 2000). Ген *TP53*, ген-супрессор опухолевого роста, кодирует транскрипционный фактор, действие которого направлено на остановку клеточного цикла, запуск старения и индукцию апоптоза. Соматические и наследуемые варианты гена *TP53* имеют большое значение в развитии злокачественных новообразований.

**Задачи исследования.** Определить спектр, частоту, структурные особенности и функциональное значение вариантов гена *TP53* у облученных женщин когорты р. Теча с РМЖ и без такового.

**Материалы и методы.** Дизайн исследования – «случай-контроль». Обследовано 57 женщин когорты р. Теча. Индивидуальные дозы воздействия на красный костный мозг составляли от 0,003 до 4,6 Гр (TRDS-2009). В основную группу вошли 29 женщин с РМЖ в возрасте  $64 \pm 12$  лет ( $M \pm \sigma$ ) на момент постановки диагноза; в контрольную группу – 28 женщин без злокачественных новообразований в анамнезе. ДНК выделяли из образцов цельной крови, хранящихся в биобанке лаборатории. Секвенировали по Сэнгеру 15 фрагментов ДНК, перекрывающих экзоны 2–11 гена *TP53*. Сборку контиг, выравнивание последовательностей, сравнение с референтной последовательностью гена *TP53* (NG\_017013) выполняли с помощью программы SeqScape v2.7 (Thermo Fisher Scientific, США). Биологическое значение детектированных вариантов анализировали с помощью IARC *TP53* Database (R. 18, April 2016).

**Результаты.** В кодирующей части обнаружены варианты (опыт/контроль): g.7579472G>C(rs1042522) – 7/11; g.7579579C>T(rs1800370) – 1/2; g.7578210T>C(rs1800372) – 1/1. В группе с РМЖ были найдены 2 варианта, которые отсутствовали в контроле: g.7578655T>A(rs145153611, 4 интрон) – у 1 человека, g.7572518G>T(rs191918079, 3'UTR) – у 1 человека. Последний

вариант отсутствует в базе данных IARC TP53 Database (R. 18, April 2016).

**Выводы.** Увеличение размеров групп позволит в будущем сделать обоснованные выводы о роли вариантов в гене TP53 в развитии РМЖ, индуцированного ионизирующей радиацией.

## Статус метилирования LINE-1 при колоректальном раке

Н.Н. Тимошкина, И.Ю. Ефимова,  
М.А. Кожушко, Д.И. Водолажский

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

**Введение.** Статус метилирования повторяющихся мобильных элементов, в частности LINE-1, играет большую роль в поддержании геномной стабильности и используется в качестве показателя уровня метилирования всего генома при различных патологических состояниях, в том числе при злокачественных опухолях.

**Задачи исследования.** Оценить статус метилирования LINE-1 при колоректальном раке (КРР) в зависимости от клинико-патологических характеристик и метилирования промоторных областей ряда генов, ассоциированных с онкогенезом в толстой кишке.

**Материалы и методы.** Метод пиросеквенирования (PyroMark Q24, Qiagen, Германия) использован для количественного определения уровня метилирования CpG-сайтов LINE-1 и 8 генов-онкосупрессоров (*APC*, *DAPK*, *CDH13*, *MLH1*, *MGMT*, *P16*, *RUNX3* и *RASSF1A*) в опухолях и нормальной ткани кишки 61 пациента с диагнозом КРР различных TNM-стадий. В отношении 11 пациентов установлены клинические признаки наследственного КРР. Статистическая обработка результатов проведена с использованием пакета IBM SPSS Statistics v. 23.0.

**Результаты.** Уровень метилирования LINE-1 в опухолях составил  $65,8 \pm 0,89$  %, что достоверно ниже ( $p = 0,0013$ ) уровня, определяемого в условно нормальных тканях ( $74 \pm 0,45$  %). Доля опухолей со значимо сниженным уровнем метилирования данного маркера в группе лиц со sporadическим КРР и группе лиц с клиническими признаками наследственного КРР не различалась, составив 50 и 45 % соответственно. Исследованные онкосупрессоры были гиперметилированы в 70 % случаев sporadических аденокарцином толстой кишки.

Изменение метилирования LINE-1 не было связано с возрастом пациентов (в отличие от гена *MGMT*), стадией заболевания, степенью дифференцировки, локализацией опухоли и отягощенностью генеалогического анамнеза. Отрицательная корреляция метилирования опухоли связывала данный маркер с генами *APC* и *CDH13* ( $r = -0,362$  и  $-0,427$  соответственно,  $p < 0,05$ ). Использованная панель маркеров дискриминировала

опухоли дистального и проксимального отдела толстой кишки ( $p = 0,041$ ), при этом в последних статистически значимо чаще встречался статус гиперметилирования генов *CDH13* и *DAPK* ( $p = 0,004$ ). Кроме того, в выборке пациентов с отягощенным семейным анамнезом статистически значимо повышался уровень метилирования *RASSF1A* ( $p = 0,0006$ ).

**Выводы.** Анализ CpG-метилирования позволяет идентифицировать различные подгруппы КРР. Настоящее исследование продемонстрировало отсутствие ассоциации статуса метилирования LINE-1 с клинико-морфологическими особенностями опухолей. Однако высокая частота встречаемости гипометилирования LINE-1 вместе с оценкой гиперметилирования онкосупрессоров может быть полезным маркером для ранней диагностики и прогноза течения КРР.

## Гиперметилируемые супрессорные микроРНК, вовлеченные в регуляцию генов *CCND1* и *BCL2* при раке молочной железы

Е.А. Филиппова<sup>1</sup>, И.В. Пронина<sup>1</sup>, В.И. Логинов<sup>1,2</sup>,  
А.М. Бурденный<sup>1,3</sup>, Т.П. Казубская<sup>4</sup>, Н.Е. Кушлинский<sup>4</sup>,  
А.А. Соколовская<sup>1</sup>, Д.М. Зайченко<sup>1</sup>, А.А. Московцев<sup>1</sup>,  
Э.А. Брага<sup>1,2</sup>, А.А. Кубатиев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», Москва;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва;

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт биохимической физики»  
им. Н.М. Эмануэля РАН», Москва;

<sup>4</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России,  
Москва

**Введение.** Эпигенетические механизмы, включая метилирование ДНК и взаимодействие между микроРНК и матричной РНК, являются наиболее динамичными в регуляции экспрессии генов.

**Задачи исследования.** Идентифицировать при раке молочной железы (РМЖ) новые микроРНК, которые вовлечены в регуляцию генов, задействованных в индукции клеточного цикла, апоптоза и/или эпителиально-мезенхимального перехода.

**Материалы и методы.** Изучена репрезентативная выборка из 58 парных (опухоль/норма) образцов РМЖ и клеточная линия РМЖ MCF7, проведены метилспецифичная и количественная ПЦР, ДНК-цитометрия, статистическая обработка с использованием программного пакета IBM SPSS Statistics Base 20. Проанализированы профили экспрессии и метилирования 20 супрессорных микроРНК и 15 опухолеассоциированных генов (отобранных как предсказанные потенциальные мишени с применением алгоритма CrossHub).

**Результаты.** Установлена значимая корреляция между метилированием промоторных областей и уровнями экспрессии генов 12 микроРНК, что подтверждает функциональную роль метилирования генов

данных микроРНК в патогенезе РМЖ. Значимые отрицательные корреляции выявлены между изменениями уровня экспрессии для следующих пар: *CCND1* – miR-212-3p, -34a-5p, -34c-3p; *BCL2* – miR-24-2-5p, -212-3p, -124-3p; *BCL6* – miR-34a-5p, -24-2-5p (Rs от -0,4 до -0,6). Результаты трансфекции клеточной линии MCF-7 мимиками микроРНК подтверждают возможность прямого или опосредованного взаимодействия miR-124-3p с матричной РНК *BCL2*, а также miR-34c-3p, -34c-5p, -34a-3p, -34a-5p с матричной РНК *CCND1*. Снижение уровня *CCND1*, опосредуемое указанными микроРНК, приводило к изменению распределения клеток MCF-7 по фазам клеточного цикла (накопление клеток в фазе G1). Среди исследованных микроРНК максимальное снижение уровня мРНК *CCND1* – в 1,9 раза – наблюдалось для miR-34c-3p; оно сопровождалось также наиболее заметным влиянием на клеточный цикл.

**Выводы.** Установлена системная роль метилирования в регуляции 12 микроРНК и предложены новые потенциальные взаимодействия микроРНК с генами *CCND1* и *BCL2*, участвующими в регуляции клеточного цикла, апоптоза и эпителиально-мезенхимального перехода, что имеет фундаментальное значение и может найти применение как потенциальные мишени для разработок таргетной терапии в комплексном лечении РМЖ.

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

## Связь экспрессии гена *BRCA1* в опухоли молочной железы с эффектом неоадьювантной химиотерапии

М.М. Цыганов, И.В. Дерюшева, М.К. Ибрагимов, Е.М. Слонимская, Н.В. Литвяков

*НИИ онкологии ФГБНУ «Томский НИМЦ РАН»*

**Введение.** Большинство современных исследований ограничены изучением лишь герминальных мутаций гена *BRCA1* (чаще всего 5382insC), и существует очень мало работ, которые характеризуют различные соматические изменения гена *BRCA1* в опухоли, в частности экспрессию данного гена и ее связь с эффектом ХТ. А учитывая данные о связи наследственной мутации *BRCA1* с высокой эффективностью препаратов платины, можно предположить, что экспрессия гена *BRCA1* также будет ассоциирована с высокой чувствительностью новообразования к препаратам платины.

**Задачи исследования.** Оценить связь экспрессии гена *BRCA1* в опухоли молочной железы с эффективностью неоадьювантной химиотерапии (НХТ).

**Материалы и методы.** Обследовано 86 больных РМЖ (IIA–IIIB). Больные получали 2–4 курса НХТ

по схемам FAC, CAH или монотерапию таксотером. Оценку экспрессии гена *BRCA1* проводили в 86 парных образцах до лечения и после НХТ методом количественной ПЦР. Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США).

**Результаты.** Изучена связь эффекта НХТ с экспрессией *BRCA1* до и после лечения. Статистически значимые различия между группой с наличием объективного ответа и группой с отсутствием ответа на НХТ характерны для общей группы больных ( $p = 0,01$ ) и для пациентов, получавших доцетаксел в монорежиме ( $p = 0,05$ ). В обоих случаях уровень экспрессии исследуемого гена был выше в группе пациентов с объективным ответом на ХТ. При этом стоит отметить, что при изначально высоком уровне экспрессии гена в общей группе, где должно наблюдаться отсутствие ответа на НХТ из-за высокой репаративной активности, мы наблюдаем обратный эффект. В этом случае стоит обратить внимание на изменение экспрессии гена в процессе химиотерапии. В 74 % случаев (26 из 35) при наличии объективного ответа на НХТ у пациентов наблюдается снижение экспрессии *BRCA1*, тогда как при отсутствии ответа на лечение у 64 % (18 из 28) больных экспрессия повышается (тест Фишера,  $p = 0,004$ ).

**Выводы.** Показана связь экспрессии гена *BRCA1* в опухоли молочной железы с эффективностью НХТ. На основании полученных данных можно полагать, что экспрессия гена *BRCA1* может также являться маркером эффективности НХТ, но это требует дальнейшего изучения.

## ДНК-полимеразная активность полиморфных вариантов *Pol iota* человека

Е.С. Шилкин, А.В. Макарова

*ФГБУН «Институт молекулярной генетики» РАН, Москва*

Согласно мутационной теории, причиной канцерогенеза являются мутации, которые образуются из-за нарушения точности работы ферментов репликации. ДНК-полимераза йота (*Pol ι*) Y-семейства человека относится к специализированным ДНК-полимеразам, способным осуществлять синтез ДНК на поврежденных ДНК-матрицах. *Pol ι* обладает самой низкой точностью синтеза ДНК среди известных ДНК-полимераз. Увеличение экспрессии и активности *Pol ι* у человека характерно для целого ряда опухолей разной локализации.

Проведен анализ влияния распространенных аминокислотных полиморфизмов, затрагивающих активный центр фермента, на активность *Pol ι* человека: R71G, E251K и I236M. Показано, что полиморфный вариант R71G обладает значительно более низкой

ДНК-полимеразной активностью в присутствии ионов как  $Mg^{2+}$ , так и  $Mn^{2+}$  по сравнению с белком дикого типа. Несмотря на снижение общей ДНК-полимеразной активности, форма R71G продемонстрировала увеличенную точность синтеза ДНК против матричных G и C за счет снижения включения некомplementарных нуклеотидов. Также для R71G наблюдали снижение включения dATP против пиримидиновых нукле-

отидов и dTTP – против матричного T. Мутантные формы E251K и I236M не показали значительных отличий в ДНК-полимеразной активности по сравнению с белком дикого типа.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Москвы (грант 15-34-70002-мол\_а\_мос).*

## Тезисы

### Связь уровня экспрессии HIF-1 $\alpha$ регулируемых генов со степенью дифференцировки клеток светлоклеточного почечно-клеточного рака

Н.В. Апанович<sup>1</sup>, М.В. Петерс<sup>2</sup>, П.В. Апанович<sup>1</sup>,  
Б.Ш. Камолов<sup>2</sup>, В.Б. Матвеев<sup>2</sup>, А.В. Карпухин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** Светлоклеточный почечно-клеточный рак (ПКР) составляет 70–80 % всех случаев рака этой локализации и является наиболее агрессивным среди гистологических подтипов.

**Задачи исследования.** Изучить молекулярно-генетические механизмы прогрессии светлоклеточного ПКР.

**Материалы и методы.** В работе исследованы уровни экспрессии 21 гена в 65 образцах светлоклеточного ПКР по сравнению с нормальной почечной тканью с помощью количественной ПЦР в реальном времени.

**Результаты.** При анализе функциональных процессов, связанных с изучаемыми нами генами, по базе Gene Ontology (GO) были выявлены 3 гена, принимающих участие в процессе дифференцировки клеток (*ANGPTL4*, *BHLHE41*, *IGFBP3*). Эти гены активируются HIF-1 $\alpha$  и имеют наиболее высокий уровень экспрессии на начальной стадии светлоклеточного ПКР. Связь уровня экспрессии этих генов со степенью дифференцировки клеток изучили экспериментально. При статистическом анализе с использованием U-критерия статистически значимые отличия уровней экспрессии при высокой и низкой степени дифференцировки выявлены для всех трех генов – *ANGPTL4* ( $p = 0,037$ ), *BHLHE41* ( $p = 0,039$ ), *IGFBP3* ( $p = 0,005$ ). Согласно полученным данным, при пониженной степени дифференцировки клеток опухоли наблюдается низкий уровень экспрессии этих генов. Статистически значимая ассоциация уровня экспрессии изучаемых генов со степенью дифференцировки клеток опухоли получена как при использовании ROC-анализа ( $p = 0,0015–0,0350$ ), так и при применении точного критерия Фишера ( $p = 0,008–0,015$ ). Применение поправки на множественность сравнений FDR сохраняет значимость ассоциации для всех трех генов.

**Выводы.** Экспериментально показана связь экспрессии изучаемых генов с процессами дифференцировки раковых клеток при светлоклеточном ПКР. Как следует из полученных результатов, снижение уровня

экспрессии генов *ANGPTL4*, *BHLHE41*, *IGFBP3* сопровождается снижением степени дифференцировки клеток опухоли, которая приобретает более злокачественный характер.

### Выявление мутаций KRAS в циркулирующей ДНК больных раком толстой кишки

И.В. Ботезату, И.О. Панчук, В.Н. Кондратова,  
В.П. Шелепов, А.В. Лихтенштейн

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

Нами разработан высокочувствительный метод сканирования генных мутаций: на 1-м этапе («обогащенная» асимметричная полимеразная цепная реакция) два зонда TaqMan избирательно подавляют амплификацию аллелей дикого типа, а на 2-м (плавление ДНК) – эти же зонды позволяют идентифицировать мутантные аллели (предел их обнаружения ~0,1 %). Сравнение стандартного и разработанного нами методов сканирования мутаций в циркулирующей ДНК выявило явные преимущества последнего: у значительной части больных раком толстой кишки обнаружены мутации онкогена *KRAS* (кодоны 12 и 13) как в самой опухолевой ткани, так и в ДНК плазмы крови. Показана, таким образом, возможность использования простого и экономичного теста (реализуемого к тому же в «закрытом формате», исключающем взаимное загрязнение клинических образцов) с целью генетической «экспресс»-биопсии у онкологических больных.

### Анализ экспрессии микроРНК при раке легкого, индуцированном курением

О.В. Булгакова, Р.И. Берсимбаев

Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева,  
Астана, Республика Казахстан

**Введение.** Рак легкого является основной причиной смертности от злокачественных новообразований в Казахстане. В патогенезе рака легкого играют роль эпигенетические механизмы, которые обеспечивают пластичность генома в ответ на действие факторов окружающей среды.

**Задачи исследования.** Изучение изменения профиля экспрессии miR-125b-5p и miR-155-5p, связанного с воздействием сигаретного дыма на организм человека.

**Материалы и методы.** Для исследования использована микроРНК, выделенная из плазмы крови 86 пациентов с диагнозом «рак легкого» и 50 относительно здоровых людей. Анализ экспрессии микроРНК проводили по методу  $\Delta\Delta Ct$ .

**Результаты.** Относительный уровень экспрессии miR-125b-5p у больных раком легкого в 4 раза превышает таковой у здоровых людей ( $p < 0,001$ ). В группе пациентов с раком легкого уровень miR-155-5p был в 2 раза выше по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,01$ ). Таким образом, можно сделать вывод, что данные микроРНК являются биомаркерами злокачественного процесса в легочной ткани.

Для оценки изменения уровня экспрессии исследуемых микроРНК в зависимости от статуса курения при раке легкого (в качестве маркера курения использовался уровень никотина менее 10 нг/мл в плазме крови) больные были разделены на 2 группы: курящие ( $n = 33$ ) и некурящие ( $n = 34$ ). Бывшие курильщики ( $n = 19$ , прекратившие курение менее чем за 6 мес до начала исследования) и контрольная группа были исключены из данного исследования. Наблюдалось статистически значимое изменение профиля miR-125b-5p в группе курящих пациентов с раком легкого, характеризующееся снижением уровня экспрессии данной микроРНК в 2 раза по сравнению с группой некурящих ( $p < 0,01$ ). Средний уровень экспрессии miR-155-5p в группе некурящих был в 1,4 раза выше, чем у курильщиков ( $p < 0,05$ ).

**Выводы.** Как было показано (Gross, 2014), табачный дым вызывает снижение уровня всех свободно циркулирующих в плазме крови микроРНК из-за ингибирующего действия на основной фермент биогенеза микроРНК — Dicer. Возможно, курение оказывает противоположный эффект на профиль экспрессии свободно циркулирующих в плазме крови микроРНК и микроРНК в легочной ткани. Однако необходимо проведение дополнительных исследований для выяснения роли miR-125b-5p и miR-155-5p в патогенезе рака легкого, индуцированного курением.

## Особенности мутационного статуса генов *TP53*, *FLT3* и *NPM1* у больных старческого возраста с острыми миелоидными лейкозами

А.В. Виноградов

ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница № 1», Екатеринбург

**Задачи исследования.** С использованием технологии прямого автоматического секвенирования определить частоту мутаций генов *TP53*, *FLT3* и *NPM1* у больных старческого возраста с острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ).

**Материалы и методы.** Исследованы пробы периферической крови и костного мозга 10 больных ОМЛ в возрасте от 75 до 83 лет, проходивших лечение в Свердловском областном онкогематологическом центре в период с 2010 по 2016 г. Выделение тотальной РНК из опухолевых клеток, обратную транскрипцию для получения кДНК, клонирование участков экзонов 4–11 гена *TP53* ( $n = 10$ ), экзонов 12–15 и 19–21 гена *FLT3* ( $n = 9$ ), экзонов 9–12 гена *NPM1* ( $n = 6$ ) методом ПЦР с последующим секвенированием по прямой и обратной последовательностям осуществляли в соответствии с ранее описанной методикой (А.В. Виноградов, 2013).

**Результаты.** Кумулятивная частота мутаций, выявленных в исследованных экзонах генов *TP53*, *FLT3* и *NPM1* у больных ОМЛ старческого возраста, составила 40,0 %. Из них в 2 случаях (ОМЛ М2 и М6) определялись несинонимичные замены в гене *TP53*, в 1 случае при ОМЛ М4 – внутренняя тандемная дупликация (internal tandem duplication, ITD) в гене *FLT3*, еще в 1 случае при ОМЛ М2 – не описанная ранее в доступных нам источниках инсерция в экзоне 12 (4 bp INS) гена *NPM1* в сочетании с ITD *FLT3*. Несинонимичные замены гена *TP53* были представлены транзицией А659G при ОМЛ М6 с комплексными аномалиями кариотипа и трансверсией А395C при ОМЛ М2 с околотриплоидией. В обоих случаях достичь ремиссии ОМЛ при проводимом химиотерапевтическом лечении не удалось. ITD *FLT3*, выявленная при ОМЛ М4 с околотетраплоидией, представляла собой тандемную дупликацию протяженностью 48 н. о. начиная с позиции 1777 и обуславливала удвоение 16 аминокислотных остатков в кодируемом белке начиная с позиции 593. Ремиссия ОМЛ в указанном наблюдении также не была достигнута. Наконец, при ОМЛ М2 с наличием 4 bp INS гена *NPM1* и ITD *FLT3* на фоне проводимого лечения была достигнута непродолжительная ремиссия длительностью около 3 мес, после чего пациентка умерла от раннего рецидива ОМЛ.

**Выводы.** Все выявленные в исследуемой группе генетические аномалии оказались ассоциированными с неблагоприятным прогнозом, при этом отмечалась корреляция прогностического значения генных мутаций, выявленных методом прямого автоматического секвенирования, с хромосомными аномалиями, определявшимися цитогенетическим методом. В 1 наблюдении при ОМЛ М2 с неуточненным кариотипом одновременно определялись 2 мутации в исследуемых генах с разнонаправленным прогностическим значением. Тем не менее химиотерапевтическое лечение в указанном случае оказалось неэффективным.

## Ассоциация мутантного статуса гена *KRAS* с прогрессированием колоректального рака в популяции пациентов юга России

Д.И. Водолажский, Я.С. Енин, Ю.А. Геворкян,  
Н.В. Солдаткина, Е.П. Омельчук, П.Б. Шуликов,  
С.Б. Панина

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

**Введение.** Колоректальный рак (КРР) является наиболее распространенным злокачественным заболеванием желудочно-кишечного тракта (более 1,2 млн зарегистрированных новых случаев и 0,6 млн смертей в год). У половины пациентов с КРР развиваются метастатические поражения. В настоящее время идентификация мутаций гена *KRAS* проводится при клиническом лечении метастатического КРР как часть рутинного тестирования перед терапией ингибиторами EGFR.

**Задачи исследования.** Анализ частоты соматических мутаций в гене *KRAS* у пациентов с КРР, а также оценка потенциальной взаимосвязи между мутациями *KRAS* и риском развития метастазов.

**Материалы и методы.** В исследование включены 1153 пациента с диагнозом КРР (аденокарциномы), получавших плановое лечение в ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России. У 78,2 % пациентов была поздняя стадия развития заболевания (III–IV), у 81,5 % имелись метастазы. Медиана возраста пациентов составила 60 лет.

Образцы ДНК были выделены фенолхлороформной экстракцией из FFPE-блоков. Тестирование образцов на наличие/отсутствие 7 активирующих SNP-мутаций в экзоне 2 гена *KRAS* проводили методом ПЦР в реальном времени с использованием набора реактивов Real-time-PCR-KRAS-7M («Биолинк», Россия) согласно инструкции производителя.

Все статистические анализы (критерий  $\chi^2$ , метод бинарной логистической множественной регрессии) проводили в пакете IBM SPSS Statistics v. 23.0.

**Результаты.** SNP-мутации в гене *KRAS* обнаружены у 33,5 % пациентов, при этом наиболее распространенной мутацией была замена G12D (12 %). Менее распространенные выявленные мутации: G13D (6,7 %), G12V (5,1 %), G12A (3,9 %), G12C (2,5 %), G12S (2,0 %), G12R (1,3 %).

Частоты проявления мутаций в гене *KRAS* в разных возрастных группах у мужчин с КРР не отличались между собой. У женщин старше 55 лет, наоборот, частота мутаций была значимо выше по сравнению с таковой у более молодых пациенток ( $\chi^2 = 6,11$ ,  $p = 0,0135$ ).

Регрессионная модель с мутациями гена *KRAS*, а также клинико-патологическими характеристиками пациента (пол, возраст, стадия и степень дифферен-

цировки) в качестве потенциальных предикторов прогрессирования КРР показала очень близкую к статистически значимой связь с метастазированием, а именно снижение риска метастазирования КРР при наличии мутации G12D (ОШ 0,625; 95 % ДИ 0,389–1,006;  $p = 0,053$ ). Также было выявлено, что с повышенным риском прогрессирования КРР связаны более поздняя стадия заболевания (ОШ 2,061; 95 % ДИ 1,790–2,373;  $p < 0,0001$ ) и пожилой возраст пациента (на уровне тенденции, ОШ 1,010; 95 % ДИ 0,999–1,022;  $p = 0,080$ ).

**Выводы.** Установлена связь мутации G12D с потенциально более низким риском метастазирования КРР. Вследствие этого требуются дальнейшие исследования с включением большого количества пациентов для идентификации прогностически значимых вариантов гена *KRAS*.

## Случай классического double-hit-механизма канцерогенеза при диффузной В-крупноклеточной лимфоме

Е.Н. Воропаева<sup>1</sup>, Т.И. Поспелова<sup>2</sup>, М.И. Воевода<sup>1</sup>,  
В.Н. Максимов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск;

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России

**Введение.** Известно, что rs78378222 гена *TP53* находится под действием отрицательного естественного отбора, а механизмом такого отбора являются злокачественные новообразования.

**Задачи исследования.** Выявить частоту rs78378222 гена *TP53* в опухолевой ткани больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой (ДВКЛ).

**Материалы и методы.** Геномная ДНК была выделена из парафиновых блоков биоптатов опухолевых лимфатических узлов и экстранодальных очагов поражения 92 пациентов с ДВКЛ методом фенольно-хлороформной экстракции с применением гуанидина. В работу брали срезы ткани, содержащие не менее 80–90 % опухолевых клеток. Генотипирование rs78378222 гена *TP53* проводили методом ПЦР с анализом полиморфизма длины рестрикционных фрагментов. Для подтверждения наличия редкой аллели С rs78378222 выполняли прямое секвенирование по Сэнгеру.

**Результаты.** Частота выявления rs78378222 в опухолевой ткани ДВКЛ составила 9 (9,8 %) из 92. Обращало на себя внимание обнаружение у 5 из 9 пациентов минорной аллели С в гомозиготном состоянии. Поскольку случаи редкого гомозиготного генотипа С/С rs78378222 в нормальной ткани не описаны,

полученные результаты свидетельствуют о потере гетерозиготности в гене *TP53* в опухолевой ткани ДВКЛ.

**Выводы.** Явление потери гетерозиготности в гене *TP53* у носителей гетерозиготного генотипа A/C rs78378222 в опухолевой ткани больных ДВКЛ служит примером классического *double-hit*-механизма канцерогенеза, описанного Кнудсенем.

## Оценка профиля микроРНК при цистаденокарциноме яичника методом NanoString

Д.Р. Долгова<sup>1</sup>, Т.П. Генинг<sup>1</sup>, Т.В. Абакумова<sup>1</sup>,  
И.И. Антонеева<sup>1,2</sup>, С.О. Генинг<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет»;

<sup>2</sup>ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер», Ульяновск

**Введение.** Изучение профиля специфических микроРНК, участвующих в механизмах пролиферации клеток, апоптозе, эпителиально-мезенхимальном переходе, взаимодействии опухоли и микроокружения, метастазировании, позволит характеризовать биологический портрет опухоли и устойчивость к ХТ (D. Taylor, 2008; Э.А. Брага, 2016).

**Задачи исследования.** Выявление специфического профиля микроРНК для пациентов с диагнозом «рак яичников» (РЯ).

**Материалы и методы.** Проведено прямое мультиплексное измерение транскрипционной активности микроРНК по технологии NanoString. В интраоперационно полученной опухолевой и прилежащей нормальной ткани первичных больных РЯ (умеренно-дифференцированная цистаденокарцинома I–III стадий по FIGO) выделяли тотальную РНК колоночным методом (RNeasy Mini Kit, Qiagen); с использованием технологии NanoString (БиоВитрум) одновременно измеряли экспрессию 555 микроРНК. Нормализованные данные представляли собой отношение значения экспрессии в опухолевой ткани к условно нормальной.

**Результаты.** При изучении экспрессии 555 мишеней по системе цифрового анализа нуклеиновых кислот с помощью штрихкодирования NanoString выявлены группы микроРНК с гиперэкспрессией и сниженной экспрессией в опухолевой ткани. У 5 пациенток с РЯ (83,3 %) обнаружена гиперэкспрессия *miR200b-3p* (в 8,56–35,84 раза) и *let-7g-5p* (в 5,07–7,18 раза). По данным научной литературы, среди генов-мишеней для *miR200b-3p* выделены *RTPN12*, *MAPK7*, участвующие в регуляции апоптоза опухолевых клеток. М. Petrillo и соавт. (2016) установили ассоциацию повышенной экспрессии *let-7g-5p* с общей и безрецидивной выживаемостью у больных серозным высокодифференцированным РЯ после неoadъювантной ХТ. Мы также наблюдали длительный безрецидивный период (более 3 лет) после стандартной ХТ по схеме AP. Кроме того, обнаружено снижение

экспрессии *miR139-5p* (в 9,5–16,7 раза) и *-3p* (в 9,42–48,47 раза), выступающих как негативные регуляторы генов, которые влияют на способность клеток к инвазии и метастазированию (Iorio M., 2007; Hu X., 2009).

**Выводы.** В опухолевой ткани первичных больных РЯ выявлена aberrантная экспрессия микроРНК *let-7g*, *miR-200c*, *-139*, *-145*, что, возможно, будет использовано при прогнозировании ответа на адъювантную платиносодержащую ХТ.

## Роль полиморфизма генов *TGFβ* и *CYP1B1* в развитии хронического лимфолейкоза

А.А. Дубровина, В.А. Овсепян, Е.Н. Зотина

ФГБУН «Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА России»

**Введение.** Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) – злокачественное лимфопрлиферативное заболевание, в основе патогенеза которого лежат взаимосвязанные иммунологические и молекулярно-генетические механизмы. Важную роль в инициации опухолевых процессов играют цитокины и ферменты биотрансформации. Трансформирующий фактор роста β (*TGFβ1*) обладает плеiotропным действием, ингибируя клеточный цикл клеток опухоли и индуцируя апоптоз – с одной стороны, и участвуя в переходе ранних опухолей в метастазирующие – с другой. Ген *CYP1B1* кодирует цитохром P450 B1 – фермент трансформации ксенобиотиков, функционально вовлеченный в эстроген-метаболический путь, отвечающий за генерирование канцерогенных соединений и геномные изменения в клетках.

**Задачи исследования.** Исследовать полиморфизм генов *CYP1B1* (с. 1294C>G, V432L, rs1056836) и *TGFβ* (*915C>G*, rs1800471).

**Материалы и методы.** Исследуемая группа включала в себя 246 больных ХЛЛ, контрольная – 316 практически здоровых доноров. В группы вошли неродственные лица русской национальности, проживающие на территории Вятского края.

**Результаты.** Определены частоты распределения полиморфных вариантов генов в группах пациентов и доноров, в том числе в зависимости от пола, возраста на момент постановки диагноза и стадии заболевания.

Установлено, что наличие аллели *915C* гена *TGFβ* ( $\chi^2 = 13,46$ ;  $p = 0,0002$ ; ОШ 2,2962) является фактором риска развития ХЛЛ, а наличие аллели *915G* – протективным фактором ( $\chi^2 = 13,46$ ;  $p = 0,0002$ ; ОШ 0,4355). Анализ полиморфизма V432L гена *CYP1B1* не выявил статистически значимых различий ( $\chi^2 = 0,45$ ;  $p = 0,8$ ).

**Выводы.** Наличие аллели *915C* гена *TGFβ* является фактором, располагающим к развитию ХЛЛ (ОШ 2,2962), с двукратным увеличением риска возникновения заболевания у носителей данной аллели, тогда как

полиморфизм гена *CYP1B1*, возможно, не связан с риском развития ХЛЛ.

## Аберрантная копияность генетических локусов при плоскоклеточном раке пищевода

О.И. Кит, Е.Н. Колесников, Д.С. Кутилин, Н.А. Петрусенко, Е.М. Непомнящая, Д.И. Водолажский

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

**Введение.** Рак пищевода находится на 8-м месте среди причин смерти от онкологических заболеваний во всем мире. Изменение копияности генетических локусов играет критическую роль в прогрессии онкологических заболеваний и очень тесно коррелирует с изменением активности (экспрессии, трансляции) соответствующих генетических локусов, являясь, соответственно, одним из основных механизмов регуляции активности генов.

**Задачи исследования.** Изучить копияность некоторых генетических локусов у больных с плоскоклеточным раком пищевода.

**Материалы и методы.** Методом количественной ПЦР в реальном времени (Bio-Rad, CFX96, США) мы провели сравнительный анализ относительной копияности генетических локусов *FHIT*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH3*, *PMS2* и *C-MYC*. В качестве референсного использовали генетический локус *GAPDH*. В исследование включены данные о вариации количества копий генетических локусов 8 пациентов с плоскоклеточным раком пищевода, проходивших плановое лечение в ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России. Все пациенты дали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Сравнительный анализ изменения копияности генетических локусов проводился в полученных методом лазерной микродиссекции микрообразцах FFPE тканей пищевода (опухолевой и неопухолевой ткани). Для проведения лазерной микродиссекции использовался программно-аппаратный комплекс Axio Observer Z1 и PALM MicroBeam (Carl Zeiss, Германия).

**Результаты.** Из 6 проанализированных генетических локусов в рамках данного исследования обнаружена аберрантная копияность (по сравнению с неопухолевой тканью) для следующих локусов: повышенная — для *MLH1*, *C-MYC* (в 2,6 и 4,0 раза соответственно) и пониженная — для *MSH2* (в 2,5 раза по сравнению с аналогичными показателями неопухолевой ткани). Копияность локусов *FHIT*, *MSH3* и *PMS2* в опухолевой ткани не отличалась от аналогичных показателей в неопухолевой ткани.

**Выводы.** В рамках данного исследования с использованием показателя аберрантной копияности генетических локусов *MLH1*, *C-MYC* и *MSH2* определен прямой генетический вклад в риск малигнизации

тканей при плоскоклеточном раке пищевода. Показатели аберрантной копияности данных локусов могут иметь прогностический и терапевтический потенциал при лечении рака пищевода. В частности, известны препараты (eugenol, pargvinium pamoate), подавляющие окислительное фосфорилирование и окисление жирных кислот ингибированием сигнального пути  $c\text{-MYC}/\text{PGC-1}\beta/\text{ERR}\alpha$ .

## Инактивация *VHL*, *VAP1*, *PBRM1* в светлоклеточном раке почки

Н.Н. Мазуренко, И.В. Цыганова, С.Д. Бежанова, Т.Ф. Маливанова, А.Ф. Мукерия, О.В. Шаньгина, В.А. Драудин-Крыленко, Д.М. Максимович, Д.Г. Заридзе

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

**Введение.** Спорадический светлоклеточный рак почки (СКРП) характеризуется нарушениями на хромосоме 3p, включающими мутации гена-супрессора *VHL* и генов *VAP1* и *PBRM1*, вовлеченных в модификации хроматина. Инактивация *VHL*, *VAP1* и *PBRM1* в СКРП может иметь прогностическое значение, она обусловлена не только мутацией гена, но и гиперметилированием промотора, что влияет на экспрессию и локализацию белкового продукта. Нормальные белки *VAP1* и *PBRM1* локализуются и функционируют в ядрах клеток, что позволяет их выявлять иммуногистохимически.

**Задачи исследования.** Изучение инактивации генов *VHL*, *VAP1* и *PBRM1* в образцах спорадического СКРП.

**Материалы и методы.** Нарушения *VHL* определяли в ДНК из свежемороженых биопсий СКРП в ПЦР с последующим секвенированием. Экспрессию *VAP1* определяли при иммуногистохимическом анализе с мышиными моноклональными антителами (клон С-4, Santa Cruz Biotechnology), а *PBRM1* — с кроличьими поликлональными антителами (GeneTex).

**Результаты.** При анализе ДНК СКРП мутации *VHL* обнаружены в 57 из 72 (79 %) образцов. Функциональные значимые нарушения *VHL* выявлены в 37 (51 %) СКРП: сдвиг рамки считывания (27), nonsense-мутации (3), делеции (4), нарушения сайта сплайсинга (3). В 14 (21 %) СКРП присутствуют missense-мутации, которые могут нарушать функцию *VHL*. Также выявлены silent-мутации (3) и точечные замены и делеции в интронах вне сайтов сплайсинга (3). При иммуногистохимическом анализе *VAP1* отсутствие экспрессии отмечено в 14 из 84 (16 %) СКРП. Ядерное окрашивание *VAP1*, в том числе фокальное, выявлено в 57 (68 %) опухолях. В 13 СКРП отмечено гранулярное окрашивание цитоплазмы (из них в 3 были также окрашены мембраны). Инактивация *PBRM1* отмечена в 44 из 84 СКРП (52 %), причем ядерная экспрессия *PBRM1* выявлена в 35 (42 %) опухолях и еще в 5 случаях

отмечено цитоплазматическое окрашивание. Фокальная ядерная окраска VAP1 и PBRM1 наблюдалась в 9 СКРП, что может указывать на поликлональность опухолей. Причины цитоплазматической локализации VAP1 и PBRM1 неизвестны.

**Выводы.** Генетические нарушения *VHL* выявлены в 79 % СКРП, инактивация PBRM1 наблюдалась в 52 %, а VAP1 в – 16 % СКРП. Для выяснения роли генов *VAP1* и *PBRM1* в развитии СКРП необходимо генетическое исследование, в частности, опухолей с цитоплазматической экспрессией *VAP1* и *PBRM1*. Будет проведена оценка значения инактивации *VAP1* и *PBRM1* для прогноза СКРП.

## Влияние аутоиммунного гаплотипа на общую выживаемость больных раком молочной железы

Т.Ф. Маливанова<sup>1</sup>, А.С. Осташкин<sup>2</sup>, Н.Н. Мазуренко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБУ «ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России»,  
Москва

**Введение.** Ген фактора некроза опухоли *TNF* расположен в области генов *HLA* III класса и имеет ряд функциональных полиморфизмов, влияющих на уровень транскрипции. Наиболее изучены однонуклеотидные замены промоторной области гена *TNF-238G>A* и *TNF-308G>A*, которые могут входить в состав наследуемых гаплотипов, охватывающих весь комплекс генов *HLA*, которые ассоциированы с предрасположенностью к аутоиммунным (АН8.1) и иммунодефицитным состояниям (B57) и с нарушением баланса синтеза цитокинов. Ранее нами было показано влияние полиморфизмов гена *TNF* на общую выживаемость (ОВ) больных раком молочной железы.

**Задачи исследования.** Изучение зависимости ОВ больных РМЖ от аллелей, входящих в гаплотипы АН8.1 (*TNF-308A: HLA-DRB1\*03*) и B57 (*TNF-238A: HLA-B\*57*).

**Материалы и методы.** В работе использована архивная коллекция ДНК от 240 первичных больных РМЖ с известным генотипом *-238G>A* и *-308G>A* гена *TNF*, из которых 19 имели аллель *-238A*, 59 – аллель *-308A*, 2 образца имели оба полиморфизма. Аллели *HLA-DRB1\*03* и *HLA-B\*57* выявляли методом ПЦР с использованием аллель-специфических праймеров. Частоты в группах сравнивали с применением критерия Фишера, 10-летнюю ОВ определяли как Mean  $\pm$  SEM %.

**Результаты.** В нашей выборке аллель *HLA-DRB1\*03* была выявлена у 44 % носителей *-308A* гена *TNF* (против 9 % у носителей гомозиготы *-308G*,  $p < 0,0001$ ). Аллель *HLA-B\*57* встречалась только у носителей *-238A* (76 % против 0 % для гомозиготы *-238G*,  $p < 0,0001$ ).

10-летняя ОВ составила  $88 \pm 6$  % для носителей *TNF-308A: HLA-DRB1\*03*,  $57 \pm 13$  % для носителей *TNF-238A: HLA-B\*57* и  $65 \pm 5$  % при отсутствии этих гаплотипов, при этом для носителей *TNF-308A* в отсутствие аллели *HLA-DRB1\*03* 10-летняя ОВ была ниже на 20 % ( $65 \pm 8$  %).

**Выводы.** По нашим данным, по крайней мере 11 % первичных больных РМЖ имеют аутоиммунный гаплотип, а 7 % – гаплотип, ассоциированный с иммунодефицитным состоянием. Можно предположить, что высокая ОВ, выявленная нами ранее для носителей аллели *TNF-308A*, обусловлена противоопухолевой активностью иммунной системы в условиях аутоиммунного статуса больных РМЖ, а не исключительно полиморфизмом *-308G>A*, повышающим экспрессию гена *TNF*. Зависимости ОВ от гаплотипа B57 в данном исследовании не обнаружено.

## Полногеномный анализ циркулирующих микроРНК при светлоклеточном раке

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

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** Циркулирующие микроРНК представляют большой интерес для исследователей как прогностические маркеры некоторых солидных опухолей. Несмотря на то, что профили микроРНК при раке почки достаточно изучены, наши знания об их циркулирующих компонентах еще ограничены.

**Задачи исследования.** Изучение полногеномного профиля циркулирующих микроРНК в плазме крови при светлоклеточном раке почки (СРП).

**Материалы и методы.** В образцах плазмы крови от 94 пациентов с диагнозом СРП и 100 контрольных лиц были протестированы 754 циркулирующих микроРНК. Учитывались такие известные факторы риска рака почки, как возраст, пол, гипертензия и диабет в анамнезе, избыточная масса тела, курение и потребление алкоголя.

**Результаты.** Анализ выявил четкую корреляцию профилей циркулирующих микроРНК со стадией заболевания. В образцах плазмы пациентов с III и IV стадиями рака почки были обнаружены специфические циркулирующие микроРНК, значительно отличающиеся от тех, которые встречались в образцах контрольных лиц и больных с ранними стадиями заболевания. Анализ молекулярных путей таргетных генов показал высокий уровень совпадений с выявленными ранее особенностями, характерными для опухолей почки. Из циркулирующих в плазме микроРНК 150 были тесно связаны с определенным прогнозом СРП, что, в свою очередь, подтверждалось клиническим течением заболевания, а также такими параметрами, как возраст постановки диагноза, пол и стадия.

**Выводы.** Таким образом, наши результаты свидетельствуют о том, что циркулирующие микроРНК могут служить маркерами прогрессирования СРП.

## Полногеномный анализ выявил новые локусы, влияющие на риск рака почки

А.Ф. Мукерия, О.В. Шаньгина, Н.П. Левачева, Ю.М. Кузиченкова, Д.Г. Заридзе

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

Проведенные ранее полногеномные исследования по изучению рака почки выявили 6 локусов, влияющих на риск этого заболевания. Метаанализ полногеномных исследований, выполненных в течение последних нескольких лет, результаты которого представлены ниже, включал в общей сложности данные 10 784 пациентов с диагнозом «рак почки» и 20 406 контрольных лиц, представителей европейской популяции. Наши результаты подтвердили связь с риском рака почки уже известных 6 локусов. Кроме того, были обнаружены 7 новых локусов, расположенных на 1p32.3 (rs4381241,  $P = 3,1 \times 10^{-10}$ ), 3p22.1 (rs67311347,  $P = 2,5 \times 10^{-8}$ ), 3q26.2 (rs10936602,  $P = 8,8 \times 10^{-9}$ ), 8p21.3 (rs2241261,  $P = 5,8 \times 10^{-9}$ ), 10q24.33-q25.1 (rs11813268,  $P = 3,9 \times 10^{-8}$ ), 11q22.3 (rs74911261,  $P = 2,1 \times 10^{-10}$ ) и 14q24.2 (rs4903064,  $P = 2,2 \times 10^{-24}$ ). Ю. М., Проведенная количественная оценка уровня экспрессии позволяет нам предположить наличие на обнаруженных участках генов-кандидатов, влияющих на предрасположенность к развитию рака почки.

## Мутации BRCA 1/2 и β-тубулина при локализованном раке предстательной железы высокого и очень высокого риска

А.К. Носов, С.А. Рева

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова»  
Минздрава России, Санкт-Петербург

**Введение.** Мутации *BRCA 1/2* ассоциированы со значительно худшим исходом при различных формах РПЖ, преимущественно встречаясь среди метастатических (Е.С. Margos, 2017). Так, исследование PRO-REPAIR-B показало влияние терапии абиратероном, доцетакселом, кабазитакселом или Ра-223 на выживаемость в зависимости от наличия или отсутствия мутаций *BRCA1*, *BRCA2*, *ATM* и *PALB2*. Одним из механизмов резистентности к терапии таксанами и развития кастрационной резистентности является альтерация тубулина (G. Galletti et al., 2017). В то же время

РПЖ высокого и очень высокого риска обладает выраженным метастатическим потенциалом и требует комплексного подхода к лечению. Потенциал определения генетических мутаций при локализованных и местно-распространенных формах РПЖ высокого риска остается неизученным.

**Задачи исследования.** Определение мутаций *BRCA 1/2* и β-тубулина у больных с РПЖ высокого и очень высокого риска и сопоставление их наличия с результатами лечения — выраженностью ответа на неoadъювантную химиогормональную терапию (НХГТ) (по динамике ПСА, регрессу локальных изменений на МРТ).

**Материалы и методы.** Оценка клинических данных, результатов морфологического исследования и качественный анализ на мутации *BRCA 1/2* и β-тубулин проведены у 36 пациентов с локализованным ( $n = 3$ ) или местно-распространенным ( $n = 33$ ) РПЖ высокого и очень высокого риска. Предоперационное обследование проводилось согласно актуальным стандартам Европейской ассоциации урологов (EAU) (N. Mottet et al., 2017). При отсутствии противопоказаний пациентам основной группы проводилась НХГТ по протоколу «Рандомизированное проспективное открытое многоцентровое исследование эффективности применения доцетаксела и дегареликса в качестве неoadъювантной химиогормонотерапии перед радикальной простатэктомией при РПЖ высокого и очень высокого риска»: сравнивали радикальную простатэктомию с комбинированным режимом, включающим лекарственное лечение (доцетаксел в дозе 75 мг/м<sup>2</sup> внутривенно 1 раз в 21 день и дегареликс подкожно в дозе 120 мг, затем каждые 28 дней в поддерживающей дозе 80 мг) и последующую радикальную простатэктомию.

**Результаты.** Средний возраст пациентов составил 65 (47–72) лет. В исследуемой группе средний уровень ПСА составил 32,8 (6,6–156,0) нг/мл, оценка по шкале Глисона 7 и менее баллов зафиксирована у 24 (66,7 %), а 8 и более баллов — у 12 (33,3 %) больных. Мутации *BRCA 1/2* не выявлены ни у одного пациента, и клиническое значение наличия таковых оценить не удалось. Гиперэкспрессия β-тубулина отмечена у 4 (11,1 %) пациентов. Уменьшение средних значений ПСА в группе неoadъювантного лечения достигнуто во всех случаях — со 46,5 (15,5–82,0) до 0,5 (0–1,5) нг/мл; у пациентов без выявленной экспрессии и у 2 пациентов снижения отмечено не было (стабилизация), в остальных случаях зарегистрировано снижение с 38,2 (9,3–156,0) до 1,5 (0,2–4,3) нг/мл ( $p = 0,4$ ). Различий в уменьшении объема предстательной железы после НХГТ в группе с экспрессией β-тубулина (–57 %, с 39,5 до 22,5 мл) и без нее (–52 %, с 52 до 27,1 мл) не выявлено ( $p = 0,8$ ). Уменьшение клинической стадии (местной распространенности опухолевого процесса) по данным МРТ до и после НХГТ зарегистрировано у 17 из 36 (47,2 %) пациентов, в том числе у 2 (50 %) из 4 больных с экспрессией β-тубулина и у 15 (46,9 %) из 32 с ее

отсутствием. Случаев биохимического прогрессирования на фоне проводимого лечения не отмечено.

**Выводы.** Полученные нами результаты не выявили возможности оценки мутаций *BRCA1/2* как метода выделения группы пациентов, которые могут получить преимущество при проведении неoadъювантной терапии при РПЖ высокого риска. Экспрессия  $\beta$ -тубулина может служить предиктором ответа на НХГТ. Для уточнения полученных данных нужны крупные исследования с длительным наблюдением за пациентами.

## Молекулярно-генетические и патоморфологические факторы экстрабульбарного роста увеальной меланомы

С. В. Саакян, А. Ю. Цыганков, А. Г. Амирян

ФГБУ «МНИИ ГБ им. Гельмгольца» Минздрава России, Москва

**Введение.** Увеальная меланома (УМ) — наиболее частая первичная внутриглазная злокачественная опухоль во взрослой популяции. Показана значимость экстрабульбарного роста опухоли как крайне неблагоприятного прогностического фактора, сокращающего ожидаемую продолжительность жизни больного в 2 раза, что обусловлено увеличением риска гематогенной и лимфогенной диссеминации опухоли.

**Задачи исследования.** Анализ ассоциации экстрабульбарного роста опухоли с патоморфологическими и молекулярно-генетическими изменениями у больных УМ.

**Материалы и методы.** Обследовано 134 пациента с УМ в возрасте от 22 до 84 лет. Средняя высота опухоли составила  $9,2 \pm 2,9$  мм, диаметр основания —  $15,3 \pm 3,5$  мм. В 97,8 % случаев проведена энуклеация пораженного глаза. По гистологическому строению выделяли веретенноклеточные ( $n = 61$ ; 45,6 %), смешанноклеточные ( $n = 46$ ; 34,3 %) и эпителиоидноклеточные ( $n = 27$ ; 20,1 %) опухоли. Методом ПЦР с анализом полиморфизма длины рестрикционных фрагментов проведено определение полной и частичной моносомии хромосомы 3, делеции короткого плеча хромосомы 1 и метилирования промоторных районов гена *RASSF1A* ( $n = 134$ ). Пациенты разделены на 2 группы — с наличием ( $n = 15$ ) и отсутствием ( $n = 119$ ) экстрабульбарного роста.

**Результаты.** Показана значимо меньшая частота (20 % против 47,9 %) относительно благоприятного веретенноклеточного типа УМ в группе с экстрабульбарным ростом. Частота полной или частичной моносомии хромосомы 3 в группе с экстрабульбарным ростом опухоли значимо выше (80 % против 50,4 %). При сопоставлении групп по таким признакам, как возраст и пол пациентов, высота и диаметр основания опухоли, вовлечение в опухолевый процесс цилиарного тела,

пигментация опухоли, наличие гемофтальма, отслойки сетчатки, субретинального экссудата, отягощенный семейный анамнез, делеция короткого плеча хромосомы 1 и метилирование промоторных районов гена *RASSF1A*, значимых отличий не выявлено.

**Выводы.** На статистически значимой выборке пациентов с УМ подтвержден благоприятный характер течения опухоли при ее веретенноклеточном типе и отрицательная роль моносомии хромосомы 3, показана взаимосвязь с экстрабульбарным ростом опухоли. Для определения взаимосвязи между вероятностью экстрабульбарного роста опухоли и другими молекулярно-генетическими изменениями необходимы дальнейшие исследования.

## Прогностическое значение ключевых молекулярных изменений при мышечно-инвазивном раке мочевого пузыря

М. П. Смаль<sup>1</sup>, А. И. Ролевич<sup>2</sup>, Т. И. Наббина<sup>2</sup>,  
С. А. Красный<sup>2</sup>, Р. И. Гончарова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь;

<sup>2</sup> Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова, агрогородок Лесной, Республика Беларусь

**Введение.** При первичном обращении у 25–30 % пациентов с опухолями мочевого пузыря регистрируется мышечно-инвазивный рак, характеризующийся неблагоприятным прогнозом и высоким уровнем смертности. Низкая выживаемость при мышечно-инвазивном раке мочевого пузыря обусловлена тем, что на момент постановки диагноза у 1/3 пациентов имеются неопределяемые метастазы в регионарных лимфоузлах и/или отдаленных органах. Выявление новых прогностических молекулярных маркеров и их использование позволит улучшить критерии отбора пациентов для разных вариантов органосохраняющего и органосохраняющего лечения.

**Задачи исследования.** Оценка прогностического значения мутаций генов *FGFR3*, *TP53*, потери гетерозиготности генов *RBI*, *CDKN2A* и метилирования гена *RUNX3* в отношении метастазирования и скорректированной выживаемости у пациентов с мышечно-инвазивным раком мочевого пузыря ( $n = 114$ ).

**Результаты.** Обнаружена статистически значимая ассоциация мутаций гена *FGFR3* с множественными ( $p = 0,005$ ), папиллярными ( $p = 0,001$ ) опухолями низкой степени злокачественности ( $p = 0,016$ ). В то же время мутации гена *TP53* были статистически значимо связаны с продвинутой стадией заболевания ( $p = 0,009$ ), единичным ( $p = 0,032$ ) и солидным ( $p = 0,035$ ) характером роста опухоли. Результаты логистического регрессионного анализа показали, что с метастатическим поражением

статистически значимо связаны такие показатели, как непапиллярный характер роста (ОШ 2,76; 95 % ДИ 1,04–7,36;  $p = 0,042$ ), мутации гена *TP53* (ОШ 3,36; 95 % ДИ 1,41–7,97;  $p = 0,006$ ), аллельные потери гена *RBI* (ОШ 4,73; 95 % ДИ 1,18–19,02;  $p = 0,029$ ).

Среди всех исследованных молекулярных изменений только в зависимости от мутационного статуса гена *TP53* наблюдались статистически значимые различия в онкоспецифической выживаемости пациентов ( $p < 0,001$ , *log-rank*-тест): 3-летние показатели выживаемости при наличии и отсутствии мутаций этого гена составили 44,1 % (95 % ДИ 28,8–59,4 %) и 75,5 % (95 % ДИ 63,7–87,3 %) соответственно.

**Выводы.** Многофакторный регрессионный анализ Кокса с учетом стандартных клинических показателей риска подтвердил независимое влияние мутаций пятого экзона гена *TP53* на снижение скорректированной выживаемости (ОР 2,85; 95 % ДИ 1,25–6,51;  $p = 0,013$ ).

*Работа выполнена в рамках ГП «Научные технологии и техника», а также при финансовой поддержке БРФФИ (договор М16К-017).*

## Поиск маркеров ранней диагностики серозных карцином яичника по профилю экспрессии микроРНК методом глубокого секвенирования

А.В. Тимофеева, В.В. Чаговец, А.В. Асатурова,  
М.В. Санникова, Г.Н. Хабас

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва

За последние годы стало очевидным, что эпигенетические регуляторные механизмы играют ключевую роль в прогрессии опухолей, и особая роль принадлежит некодирующим РНК. Наиболее изученными с точки зрения онкогенеза являются малые некодирующие РНК, в частности микроРНК. Поскольку они регулируют экспрессию ключевых генов, задействованных в возникновении и прогрессии опухолей, их можно считать не только перспективными маркерами ранней диагностики и прогноза заболевания, но и мишенями для терапевтического воздействия.

Цель работы заключалась в создании молекулярного портрета серозной карциномы яичников высокой степени злокачественности, серозной пограничной цистаденомы, серозной доброкачественной цистаденомы по профилю экспрессии мкРНК методом глубокого секвенирования (NextSeq500, Illumina) для понимания молекулярных механизмов патогенеза карциномы яичников и создания скринингового теста ранней неинвазивной диагностики заболевания.

В результате проведенного исследования были сформированы списки, состоящие из 20 и 114 микроРНК, дифференциально экспрессированных в серозной пограничной цистаденоме и серозной карциноме высокой степени злокачественности соответственно при сравнении с профилем экспрессии мкРНК в доброкачественной цистаденоме (кратность изменений  $>2$ ,  $p < 0,05$ ). Отмечено, что дисрегуляция экспрессии miR-200c-3p, miR-200b-3p, miR-10a-5p, miR-449c-5p, miR-200a-3p, miR-205-5p, miR-200a-5p, miR-183-5p, miR-449a, miR-200b-5p, miR-182-5p, miR-4508, miR-135b-5p, miR-31-5p, miR-141-3p, miR-21-3p, miR-429 обнаружена как в пограничной цистаденоме, так и серозной карциноме яичника. Кроме того, в серозной карциноме выявлено статистически значимое снижение в 4–8 раз уровня экспрессии микроРНК, мишенями которых является семейство ABC-транспортеров, играющих ключевую роль в развитии множественной лекарственной устойчивости опухоли, а именно hsa-miR-129-5p (ген-мишень *MDR1*), hsa-miR-328-3p и hsa-miR-195-3p (ген-мишень *ABCG2*), hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-145-5p, hsa-miR-134-5p, hsa-miR-1-3p, hsa-miR-1291 (ген-мишень *ABCC1*). Миметики вышеперечисленных микроРНК можно рассматривать в качестве потенциальных терапевтических средств для предотвращения развития лекарственной устойчивости серозных опухолей яичника.

Помимо создания молекулярного портрета анализируемых нами опухолей яичника в настоящей работе впервые выявлено статистически значимое повышение уровня экспрессии miR-101-3p в 20 раз в плазме крови больных с цистаденокарциномой яичника высокой степени злокачественности по сравнению со здоровыми женщинами, что можно использовать в качестве диагностического теста для данного заболевания.

## Определение аллельной нагрузки мутаций экзона 12 гена *JAK2* при диагностике миелопролиферативных заболеваний

В.В. Тихонова<sup>1,2</sup>, Л.А. Кесаева<sup>1,2</sup>, Н.Н. Касаткина<sup>1</sup>,  
В.А. Мисюрин<sup>1</sup>, Е.Н. Мисюрина<sup>3</sup>, А.В. Мисюрин<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup> ООО «ГеноТехнология», Москва;

<sup>3</sup> ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница № 52»

**Введение.** Соматические мутации в гене *JAK2* имеют большое значение в патогенезе Ph-негативных миелопролиферативных заболеваний. Истинная полицитемия (ИП) примерно в 95 % случаев ассоциирована с мутацией *Jak2V617F*. Однако около 5 % больных ИП имеют иные мутации, например в экзоне 12 гена *JAK2*, которых на данный момент описано более 40 видов.

Большое разнообразие мутаций в экзоне 12 *JAK2* является сложной мишенью для диагностики, но их определение рекомендуется в качестве обязательного анализа для подтверждения диагноза миелопролиферативных заболеваний.

**Задачи исследования.** Изучить частоту встречаемости мутаций в экзоне 12 гена *JAK2* у пациентов с подозрением на ИП при отсутствии мутации *Jak2V617F*, разработать метод молекулярной диагностики самых распространенных мутаций на основе ПЦР в реальном времени.

**Материалы и методы.** Из гранулоцитов периферической крови 1690 пациентов с предварительным диагнозом ИП была выделена ДНК. Отсутствие мутации *Jak2V617F* определялось методом ПЦР в реальном времени. Наличие мутаций в экзоне 12 гена *JAK2* исследовалось с помощью ПЦР в реальном времени и секвенирования по Сэнгеру.

**Результаты.** Мутация *Jak2V617F* была выявлена у 649 лиц. Методом секвенирования по Сэнгеру мутации в экзоне 12 гена *JAK2* были обнаружены у 10,

у 1 человека были определены одновременно мутация *Jak2V617F* и дупликация 33 нуклеотидов в экзоне 12 гена *Jak2*. Делеции *AATGAA* (N542-E543del), *GAAATG* (R541-E543del) и *AAATGA* (R541-E543del) встречались в 2 случаях каждая, у остальных были обнаружены мутации других вариантов — *H538del*, *H538-K539delinsS* и *E543-D544del*. Для делеций *AATGAA*, *GAAATG* и *AAATGA* был разработан метод определения аллельной нагрузки на основе ПЦР в реальном времени. Аллельная нагрузка мутантной формы для 3 пациентов оказалась более 50 % (74,4; 87,1 и 93,3 %), для других 3 пациентов — значительно ниже (30,7; 10,2 и 5,3 %). Для пациента, у которого данный параметр оценивали с промежутком в 2 года, аллельная нагрузка выросла с 10,2 до 93,3 %.

**Выводы.** Количественный метод определения аллельной нагрузки мутаций в экзоне 12 гена *Jak2* с помощью ПЦР в реальном времени является высокочувствительным и может быть полезен для оценки ответа на терапию и дифференциальной диагностики.

## СЕКЦИЯ III

## БИОЛОГИЯ И МЕТАСТАЗИРОВАНИЕ ОПУХОЛЕЙ

## Доклады

**Внутриопухолевая морфологическая гетерогенность плоскоклеточных карцином головы и шеи: связь с течением и исходами заболевания**

В.А. Бычков<sup>1</sup>, Л.Н. Бондарь<sup>1</sup>, Л.В. Пикалова<sup>2</sup>,  
В.М. Перельмутер<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ онкологии ФГБНУ «Томский НИМЦ РАН»;  
<sup>2</sup>ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер»

**Введение.** Опухолевая гетерогенность является основным препятствием для развития эффективных методов лечения. Для выявления прогностической значимости морфологической неоднородности плоскоклеточных карцином предложено несколько систем: А.С. Broders (1920), Р.А. Jakobsson и соавт. (1973), G. Anneroth и соавт. (1987), М. Вруге и соавт. (1998) и др. В данной работе проведена оценка дополнительного критерия прогноза течения заболевания. В каждой опухоли идентифицировали 5 типов клеточных структур различной степени дифференцировки: структуры с ороговением (1-й тип), с клетками базалоидного и шиповатого типов без ороговения (2-й тип), с клетками базалоидного типа (3-й тип), с выраженным клеточным полиморфизмом (4-й тип) и одиночные опухолевые клетки (5-й тип).

**Задачи исследования.** Определить связь 5 типов структур с основными клинико-морфологическими характеристиками плоскоклеточных карцином головы и шеи и показателями выживаемости.

**Материалы и методы.** Исследовали срезы опухоли от 92 пациентов с плоскоклеточным раком головы и шеи T1–4N0–3M0 различных локализаций. Учитывали следующие параметры: пол, степень распространенности опухоли, наличие метастазов в региональные лимфатические узлы, количество пораженных лимфатических узлов, ороговение опухоли, наличие инвазии

в подлежащие структуры, выраженность воспалительного инфильтрата, показатели общей, безрецидивной и безметастатической выживаемости.

**Результаты.** У пациентов с наличием в опухоли низкодифференцированных структур, образованных полиморфными клетками (4-й тип) и одиночно расположенными опухолевыми клетками (5-й тип), значительно чаще наблюдается поражение метастазами региональных лимфатических узлов. Также обнаружено, что у таких пациентов снижены выраженность воспалительной реакции в строме опухоли и показатели общей выживаемости, что является неблагоприятным прогностическим фактором и свидетельствует об агрессивном течении заболевания.

**Заключение.** Таким образом, учет морфологической гетерогенности опухоли позволяет на ранних сроках делать предположение о характере течения плоскоклеточных карцином головы и шеи.

**Неканонические механизмы активации HIF- $\alpha$  в опухоли**

В.А. Кобляков

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

Основными свойствами злокачественности, приводящими к летальному исходу, являются инвазия и метастазирование. Они реализуются независимо от того, какие нарушения привели к возникновению опухоли: мутации онкогенов или генов-супрессоров, вызванные различными факторами, вирусная инфекция. Видимо, происходит однотипная активация некоторой клеточной системы, приводящая к реализации опухолевого фенотипа, в том числе к инвазии и метастазированию, при которых возникают нарушения межклеточного взаимодействия, разрушение межклеточного матрикса, что позволяет опухолевым клеткам

прорасти внутрь окружающей нормальной ткани и мигрировать в отдаленные органы. Есть основание предполагать, что общим регуляторным фактором развития опухолевого процесса независимо от канцерогенного воздействия является функционирование комплекса транскрипции HIF- $\alpha$  – ARNT.

Регуляторное звено комплекса – белок HIF- $\alpha$ . Он активируется при гипоксии, изменяя функционирование многих клеточных систем. Переключается энергообеспечение клеток с тканевого дыхания на гликолиз, происходит активация генов, поддерживающих полипотентность клеток, кодирующих различные типы протеаз, протонных помп и других генов, характеризующих опухолевый рост. При переходе на гликолиз образуется лактат, что вызывает подкисление межклеточного пространства и активацию металлопротеиназ, разрушающих межклеточные контакты и межклеточный матрикс.

Большая часть опухолевых клеток находится в состоянии гипоксии, и активация HIF- $\alpha$  происходит естественным образом. Однако опухолевые клетки, находящиеся в оксигенированном состоянии, также функционируют по гипоксическому механизму, что необходимо для реализации опухолевой потенции. Переключение на псевдогипоксию связано с активацией HIF- $\alpha$  и обусловлено ингибированием белка пролилоксидазы, являющегося отрицательным регулятором HIF- $\alpha$ . Инактивация пролилоксидазы происходит при повышенном образовании активных форм кислорода, ингибирующих активность фермента.

Активные формы кислорода образуются в результате нарушения функционирования дыхательной цепи митохондрий, при активности гена *H-ras* с мутацией в кодоне 12 или при воспалении. При повышенной активности белка Src, либо киназ Cdk1 или Cdk5, фосфорилирующих пролилоксидазу и таким образом блокирующих ее активность, наблюдается ингибирование сукцинатдегидрогеназы или фумараткиназы, что вызывает накопление в клетке сукцината или фумарата, являющихся ингибиторами пролилоксидазы.

## Морфологическая характеристика и прогностическое значение разных типов сосудов при раке желудка и раке молочной железы

М.А. Сеньчукова<sup>1,2</sup>, Н.В. Никитенко<sup>3</sup>,  
Е.И. Шурыгина<sup>1,2</sup>, О.Н. Томчук<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России, Оренбург;

<sup>2</sup>ГБУЗ «Оренбургский областной клинический онкологический диспансер», Оренбург;

<sup>3</sup>ГБУЗ «Онкологический диспансер № 2» Минздрава Краснодарского края, Сочи

Изучены морфология и прогностическая значимость различных типов опухолевых сосудов при раке желудка (РЖ) и РМЖ. Образцы опухоли и прилежащих тканей 73 больных РЖ и 59 пациенток с РМЖ окрашивали гематоксилином Майера и эозином и иммуногистохимически, с использованием антител к CD34.

В результате проведенного исследования идентифицированы следующие типы сосудов и структур с эндотелиальной выстилкой (ЭВ): обычные капилляры, дилатированные капилляры (ДК), атипичные ДК с хаотичным расположением эндотелиальных клеток, полостные структуры с частичной ЭВ и ячеистые структуры в рыхлой нежно-волокнистой перитуморальной строме.

Анализ показал, что плотность обычных капилляров не связана с клиническими характеристиками и прогнозом РЖ. В то же время при РМЖ плотность обычных капилляров была выше при наличии метастазов в регионарные лимфатические узлы ( $p = 0,04$ ).

Отмечено, что ДК локализовались преимущественно в околоопухолевой строме как при РЖ, так и при РМЖ. При РЖ они достоверно чаще наблюдались при низкодифференцированном и недифференцированном типах ( $p = 0,04$ ) и стадии N2 ( $p = 0,002$ ). При их наличии отмечено снижение показателей общей выживаемости с 95,1 до 60,2 % ( $p = 0,003$ ) и безрецидивной выживаемости с 82,5 до 52,3 % ( $p = 0,025$ ). При РМЖ количество ДК не было связано с клинкоморфологическими характеристиками и молекулярными подтипами заболевания, но положительно коррелировало с количеством атипичных ДК ( $p = 0,0008$ ), полостные структуры – с частичной ЭВ ( $p = 0,003$ ) и ячеистыми структурами ( $p = 0,002$ ).

С прогностической точки зрения наиболее значимыми маркерами были количества атипичных ДК и полостных структур с частичной ЭВ, которые коррелировали друг с другом ( $p < 0,00001$ ) и идентичным образом с соответствующими характеристиками РЖ и РМЖ. При РЖ наличие множественных полостных структур с частичной ЭВ достоверно чаще наблюдалось при T3–4 ( $p = 0,001$ ) и N2 ( $p = 0,001$ ) и было связано со снижением показателей общей выживаемости с 93,9 до 52,7 % ( $p = 0,0013$ ) и безрецидивной выживаемости с 87,7 до 32,4 % ( $p = 0,0001$ ). При РМЖ множественные полостные структуры с частичной ЭВ чаще наблюдались при отрицательном статусе рецепторов эстрогенов ( $p = 0,03$ ) и наличии опухолевых эмболов в сосудах ( $p = 0,08$ ). Присутствие ячеистых структур при РЖ было связано с диффузным типом ( $p = 0,07$ ), при РМЖ – с положительным Her2/new-статусом опухоли ( $p = 0,008$ ) и наличием опухолевых эмболов в сосудах ( $p = 0,16$ ).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о морфологической неоднородности опухолевых сосудов и о том, что различные типы опухолевых сосудов связаны с разными клинико-морфологическими и биологическими характеристиками РЖ и РМЖ.

## Ангиогенные свойства циркулирующих экзосом крови

С.Н. Тамкович<sup>1-3</sup>, А.К. Сомов<sup>1</sup>, Г.Д. Сагарадзе<sup>3</sup>,  
О.С. Тутанов<sup>1</sup>, К.В. Карпухина<sup>1,4</sup>, Д.И. Клемешова<sup>2</sup>,  
Н.В. Юнусова<sup>5</sup>, В.В. Власов<sup>1,2</sup>, Ю.П. Центалович<sup>6</sup>,  
В.А. Ткачук<sup>3</sup>, П.П. Лактионов<sup>1,7</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск;

<sup>2</sup>факультет естественных наук ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»;

<sup>3</sup>факультет фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва;

<sup>4</sup>ГБУЗ НО «Новосибирский областной клинический онкологический диспансер»;

<sup>5</sup>НИИ онкологии ФГБНУ «Томский НИМЦ РАН»;

<sup>6</sup>ФГБУН Институт «Международный томографический центр» СО РАН, Новосибирск;

<sup>7</sup>ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России, Новосибирск

Показано, что экзосомы могут переносить некоторые факторы ангиогенеза и транспортировать их с током биологических жидкостей в отдаленные ткани и органы. В представленной работе исследована ангиогенная активность экзосом, циркулирующих в плазме крови, и экзосом, ассоциированных с форменными элементами крови (ассФЭК) здоровых доноров (ЗД) и больных РМЖ.

Экзосомы крови были выделены методом ультрафильтрации с последующим ультрацентрифугированием. С помощью анализатора частиц Malvern NS300 показано, что экзосомы плазмы ЗД имели размер  $96 \pm 16$  нмоль, суммарные экзосомы крови (везикулы плазмы + везикулы ассФЭК) —  $130 \pm 5$  нмоль, у больных РМЖ —  $127 \pm 7$  и  $129 \pm 12$  нмоль соответственно. Проточной цитофлуориметрией идентифицированы следующие субпопуляции везикул:  $CD24/CD9 > CD9/CD81 > CD9/CD63 = CD24/CD63$ , что подтверждает их экзосомальную природу и вклад эндотелиальных и гемопоэтических клеток в генерацию пула экзосом. Ангиогенную активность везикул оценивали с помощью методики образования капилляроподобных структур (микротрубочек) эндотелиальными клетками пупочной вены человека (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC) на матрикеле, обедненном ростовыми факторами. Подсчет суммарной длины микротрубочек в лунке выполняли с использованием программного обеспечения ImageJ. Показано, что добавление  $4 \times 10^9$  экзосом из плазмы крови ЗД, плазмы и суммарных экзосом крови больных РМЖ к  $2 \times 10^4$  клеток HUVEC приводит к стимуляции формирования микротрубочек по сравнению с контролем на 59, 83 и 69 % соответственно, а добавление суммарных экзосом крови ЗД — к ингибированию их формирования на 60 %. Методом MALDI-TOF идентифицированы 78 и 33 белка в составе экзосом в норме и при РМЖ соответственно.

Показано, что в экзосомах плазмы проангиогенные белки представлены в 2 раза чаще, чем в суммарных экзосомах крови как у ЗД, так и у больных РМЖ. Не выявлено белков с антиангиогенной активностью в составе суммарных экзосом крови ЗД. Ингибирование ангиогенной активности под действием экзосом ассФЭК ЗД, по-видимому, определяется молекулами небелковой природы.

В дальнейшей работе планируется оценить уровень экспрессии микроРНК, обладающих ангиогенезстимулирующей активностью в этом пуле экзосом.

## Регуляция опухолевой прогрессии: вклад клональной эволюции, опухолевой гетерогенности и микроокружения

Н.В. Чердынцева<sup>1,2</sup>, Н.В. Литвяков<sup>1,2</sup>, Е.В. Денисов<sup>1,2</sup>,  
И.В. Митрофанова<sup>1,2</sup>, М.А. Булдаков<sup>1,2</sup>, М.В. Завьялова<sup>1,2</sup>,  
Е.М. Слонимская<sup>1,2</sup>, Ю.Г. Кжышковска<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФНБНУ «Томский НИМЦ РАН», Томск;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск;

<sup>3</sup>Институт трансфузионной медицины и иммунологии, медицинский факультет Мангейма, Университет Гейдельберга, Германия

Для объяснения свойств и поведения сложного объекта (системы) исследователь должен оперировать информацией на соответствующих иерархических уровнях, на которых реализуются процессы, организующие целостный объект (Bizzarri, 2017). Сложность экосистемы злокачественной опухоли определяется влиянием экспозиции к генотоксическим факторам, генетической основой организма, иммуно-нейро-эндокринной регуляцией на системном и локальном уровне, топографией опухоли, что в результате формирует биологическое поведение злокачественного образования и исход заболевания. По сути, состояние организма обеспечивает судьбу опухоли.

Основными причинами опухолевой прогрессии считаются внутриопухолевая гетерогенность как результат клональной эволюции опухоли при ХТ и индуцированная лекарственная резистентность. При этом принципиально важное значение имеют особенности взаимоотношений злокачественного образования и микроокружения в контексте опухолевой экосистемы. Риск метастазирования определяется биологическими характеристиками злокачественного образования и свойствами микроокружения в первичном опухолевом очаге, а также локальными и системными факторами, влияющими на формирование метастатических ниш (В.М. Перельмутер, В.Н. Манских, 2012). Гетерогенность характера взаимоотношений опухоли и микроокружения вносит вклад в клиническое течение заболевания и ответ на ХТ. Клональная эволюция

злокачественного образования под влиянием ХТ служит основой для выявления новых информативных предсказательных маркеров (N.V. Litviakov и соавт., 2016, 2017). Показано, что разные типы морфологических структур РМЖ различаются по спектру сигнальных путей, характеру воспалительной инфильтрации и в отношении прогноза заболевания (Zavjalova и соавт., 2013, Denisov и соавт., 2017).

Для повышения эффективности идентификации информативных маркеров прогноза и мишеней для терапии необходимо принимать во внимание изменения, связанные с клональной эволюцией опухоли, гетерогенность взаимодействия опухоли и микроокружения, состояние иммунной системы на разных уровнях.

*Работа поддержана РФФИ (грант 16-54-76015) ERA Net RUS Plus и Программой повышения конкурентоспособности Томского государственного университета.*

## Убиквитинлигаза MDM2 контролирует раковоассоциированный метаболизм

О.Ю. Шувалов<sup>1</sup>, А.И. Шакирова<sup>1</sup>, А.И. Кизенко<sup>1</sup>,  
А.В. Пегухов<sup>1</sup>, О.А. Фёдорова<sup>1</sup>, А.А. Дакс<sup>1</sup>, Э. Боттрл<sup>2</sup>,  
А.В. Кудрявцева<sup>3</sup>, Н.А. Барлев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург;

<sup>2</sup>Medieval Research Centre, University of Leicester, Лестер, Великобритания;

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН», Москва

Раковые клетки различного генезиса характеризуются специфическими изменениями в метаболизме, которые в настоящее время рассматриваются как общее свойство опухолевых клеток. К основным изменениям можно отнести в первую очередь эффект Варбурга («аэробный» гликолиз), интенсифицированный одноуглеродный метаболизм, а также *de novo* приобретенную способность к биосинтезу жирных кислот. Соответствующие ключевые ферменты раковоассоциированного метаболизма и их регуляторы рассматриваются в качестве перспективных мишеней онкофармакологии.

Белок p53 – важнейший онкосупрессор. В свою очередь, убиквитинлигаза MDM2 является основным негативным регулятором активности p53. Помимо этого, MDM2 – важный регулятор ряда других клеточных процессов.

В данной работе в целях выявления новых, не известных ранее функций MDM2 мы использовали протеомный подход для идентификации белков-интерактантов. При этом мы использовали клеточные модели рака легкого и РМЖ. Анализ полученных данных показал, что среди прочих белков интерактантами MDM2 являются ключевые ферменты гликолиза, цикла Креб-

са, окислительного фосфорилирования, фолатного цикла и биосинтеза нуклеотидов, а также ферменты биосинтеза и деградации жирных кислот. Это косвенно указывает на вовлеченность MDM2 в контроль раковоассоциированного метаболизма.

С применением GST pull-down и коиммунопреципитации с последующим иммуноблоттингом мы верифицировали данные масс-спектрометрии о взаимодействиях MDM2 с рядом ферментов гликолиза и одноуглеродного метаболизма. Мы показали, что MDM2 отрицательно регулирует экспрессию этих ферментов на уровне белка.

Далее с использованием таргетной метаболомики, MitoTracker-зависимой визуализации митохондриального потенциала и технологии метаболомического профилирования SeaHorse мы показали, что убиквитинлигаза MDM2 отрицательно регулирует продукцию лактата, митохондриальный потенциал, а также интенсивность процессов гликолиза и дыхания. Кроме того, мы обнаружили, что экспрессия MDM2 способствует восприимчивости раковых клеток к ингибиторам гликолиза и дыхания (2,4-дезоксиглюкозе, оксамату, олигомицину) и одноуглеродного метаболизма (метотрексату).

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о неизвестной ранее функции убиквитинлигазы MDM2 – отрицательной регуляции энергетического и одноуглеродного метаболизма раковых клеток.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 17-75-10205).*

## Влияние прогестерона на активность белка-транспортера гликопротеина-Р

А.В. Шулькин, И.В. Черных, Н.М. Попова,  
Д.О. Уткин, Е.Н. Якушева

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань

**Введение.** Гликопротеин-Р (Pgp, ABCB1-белок) – белок-транспортер, участвующий в выведении ХТ-препаратов – его субстратов (колхицин, топотекан) из опухолевых клеток. Повышенную активность данного белка связывают с развитием множественной лекарственной устойчивости опухолей. В исследованиях *in vitro* показано, что прогестерон является ингибитором Pgp.

**Задачи исследования.** Изучить влияние прогестерона на активность Pgp в эксперименте *in vivo*.

**Материалы и методы.** Работа выполнена на 23 самках кроликов породы шиншилла. Животных разделили на 4 группы: 1-й была проведена «ложная операция», 2-й – овариоэктомия, 3-й и 4-й – овариоэктомия и начиная с 15-х суток после операции перорально

вводили прогестерон в дозах 2 и 15 мг на животное соответственно. За 7 дней до начала исследования на 14, 28 и 42-е сутки после оперативного вмешательства у кроликов всех групп определяли функциональную активность Pgr по анализу фармакокинетики его маркерного субстрата фексофенадина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и сывороточные концентрации половых гормонов (прогестерона, эстрадиола, тестостерона) радиоиммунным методом.

**Результаты.** Овариоэктомия у кроликов породы шиншилла приводила к снижению функциональной активности белка-транспортера Pgr, что проявлялось изменением фармакокинетики его маркерного субстрата – фексофенадина: повышением максимальной концентрации ( $C_{max}$ ), площади под фармакокинетической кривой концентрация – время ( $AUC_{0-t}$ ) и снижением общего клиренса (Cl). Введение прогестерона

в дозе 2 мг на животное в течение 28 дней на фоне овариоэктомии повышало функциональную активность Pgr по сравнению с показателями серии овариоэктомии, однако активность белка-транспортера оставалась сниженной по сравнению с исходными данными. Применение прогестерона в дозе 15 мг на животное на фоне овариоэктомии повышало функциональную активность Pgr по сравнению с показателями серии овариоэктомии, восстанавливая активность белка-транспортера до показателей интактных животных.

**Выводы.** Таким образом, в опытах *in vivo* показано, что прогестерон является индуктором белка-транспортера Pgr и не может применяться для преодоления множественной лекарственной устойчивости.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 16-04-00320а).*

## Постеры

### Гиперметилирование 10 генов микроРНК вовлечено в метастазирование серозной карциномы яичников

А.М. Бурденный<sup>1,2</sup>, В.И. Логинов<sup>1,3</sup>, И.В. Пронина<sup>1</sup>,  
Е.А. Филиппова<sup>1</sup>, Т.П. Казубская<sup>4</sup>, Д.Н. Кушлинский<sup>4</sup>,  
Д.О. Уткин<sup>4</sup>, Э.А. Брага<sup>1-3</sup>, Н.Е. Кушлинский<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», Москва;

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт биохимической физики  
им. Н.М. Эмануэля РАН», Москва;

<sup>3</sup>ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва;

<sup>4</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

Метилирование промоторных CpG-островков может подавлять экспрессию генов и, следовательно, ингибирующую функцию супрессорных микроРНК, что может служить как возникновению, так и прогрессированию рака. Настоящее исследование посвящено анализу роли метилирования в изменении экспрессии 12 микроРНК при серозной карциноме яичников (СКЯ).

Использованы 76 парных (опухоль/норма) образцов СКЯ, применяли метилспецифичную ПЦР и количественную ПЦР. Идентифицированы новые гиперметилированные гены микроРНК и установлена значимая корреляция изменений метилирования с уровнем экспрессии для 12 микроРНК: miR-124-3p, -125b-5p, -127-5p, -129-5p, -132-3p, -137, -148a-3p, -191-5p, -193a-5p, -203a, -339-3p и -375 ( $R_s = 0,67-0,97$ ;  $p \leq 0,0001$ ). Обнаружена значимая ассоциация гиперметилирования 10 генов микроРНК (*MIR-124-2*, *-124-3*, *-125B-1*, *-127*, *-129-2*, *-137*, *-193A*, *-203A*, *-339*, *-375*) с метастазами СКЯ (в лимфатические узлы, по брюшине и в отдаленные органы). Гиперметилирование 10 генов микроРНК в метастазах СКЯ подтверждено на дополнительной выборке 13 образцов перитонеальных макрометастазов и родительских первичных опухолей. Интересно, что гены *MIR-203A* и *MIR-375* гиперметилированы только при метастазировании и не гиперметилированы при локализованной СКЯ.

Полученные нами результаты свидетельствуют о функциональном значении метилирования в регуляции экспрессии 12 микроРНК при СКЯ и участии 10 гиперметилированных генов микроРНК в метастазировании СКЯ. Гиперметилирование ряда генов микроРНК, включая *MIR-203A* и *MIR-375*, можно предложить в качестве маркеров прогноза метастазирования СКЯ.

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

### Терапевтическое ингибирование фактора теплового шока 1 влияет на метастатические характеристики колоректального рака

М.О. Гаянова, Е.В. Мартова, А.Д. Никотина,  
Б.А. Маргулис, И.В. Гужова

ФГБУН «Институт цитологии РАН»,  
Санкт-Петербург

**Введение.** Метастазирование является одной из главных причин, приводящих к смертности от рака. На начальных этапах процесса метастазирования происходит включение программы эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП), характеризующейся утратой эпителиальными клетками своих характеристик (межклеточных контактов, полярности, адгезии) и приобретением мезенхимного фенотипа со способностью к активной миграции и инвазии. Показано, что транскрипционный фактор теплового шока (heat shock transcriptional factor 1, HSF-1), который начинает работать во время стресса, активен во многих типах опухолей и принимает участие в процессах ЭМП. Он играет центральную роль в активации транскрипции генов белков теплового шока (heat shock proteins, HSP), которые являются основными участниками цитопротекторной системы опухолевых клеток. Ранее в нашей лаборатории в результате скрининга 1000 соединений, предоставленных компанией «Интербиоскрин», был найден ингибитор HSF-1 – CL43.

**Цель исследования** – изучить терапевтическое действие CL43 на клеточной модели колоректального рака. Мы предположили, что обнаруженное нами вещество может подавлять метастатические характеристики опухолевых клеток.

**Материалы и методы.** Мы использовали клеточную модель ЭМП – клетки линий DLD1, HT29 (колоректальный рак), которые вводили в ЭМП с помощью трансформирующего фактора роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ ). Провели сравнительную оценку экспрессии биохимических (мезенхимальных и эпителиальных) маркеров клеток, подверженных действию CL43. Применяли такие методы, как SDS-электрофорез, вестерн-блоттинг. Проводили иммуноцитохимическое окрашивание клеток в целях контроля распределения E-кадгерина. На приборе xCELLigence RTCA DP (ACEA Biosciences, США) исследовали эффекты влияния ингибитора HSF-1 на пролиферативную и миграционную активность клеток. Для анализа цитотоксичности использовали метод

оценки активности лактатдегидрогеназы в среде (ЛДГ-тест).

**Результаты.** Мы показали снижение уровня маркеров ЕМТ, таких как виментин, Slug, Snail, восстановление распределения Е-кадгерина у клеток под действием CL43. Также было установлено, что вещество CL43 подавляет миграцию и пролиферацию. Кроме того, в рабочей концентрации оно не обладает цитотоксическими свойствами.

**Выводы.** Было продемонстрировано, что обнаруженное нами вещество способно оказывать влияние на процесс ЭМП. Кроме того, оно не токсично для клеток, что может позволить использовать его в терапевтических целях. Мы планируем продолжить исследование, сосредоточив внимание на одной из мишеней HSF-1 – HSP70, который, как мы предполагаем, может принимать участие в процессе ЭМП.

## Раково-тестикулярные антигены – семеногелины I и II – влияют на миграционный потенциал и резистентность к генотоксической терапии клеточных моделей рака легкого

А.И. Кизенко, О.Ю. Шувалов, Н.А. Барлев

ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург

Белки семеногелин I (SgI) и семеногелин II (SgII) составляют 20–40 % белков семенной жидкости у человека. Они участвуют в транспорте ионов цинка, антибактериальной защите, активации гиалуронидазы и регуляции движения сперматозоидов. В литературе накапливается все больше данных о том, что семеногелины могут быть детектированы в клинических образцах злокачественных новообразований различного генезиса, а также в крови онкологических больных. Например, показано, что эти белки экспрессируются и экскретируются клетками карциномы легкого. При этом данные о биологических функциях семеногелинов в раковых опухолях на сегодняшний день отсутствуют. Кроме того, остается неясным, является ли экспрессия семеногелинов в раковых клетках следствием глобального нарушения транскрипционного паттерна, свойственного этим клеткам, или же опухолевые клетки, экспрессирующие семеногелины, обладают селективным преимуществом.

Мы провели биоинформатический анализ, который показал высокую корреляцию уровня экспрессии семеногелинов в опухолевых клетках с низкой выживаемостью пациентов при ряде онкологических заболеваний, включая рак легкого. Для прояснения биологической роли семеногелинов мы использовали временную трансфекцию клеточной модели немелко-

клеточного рака легкого человека – линии H1299 – векторами, кодирующими SgI и SgII. После этого мы оценили интенсивность пролиферации, миграционную активность клеток (тест на «заращение царапины»), а также их восприимчивость к широко применяемым генотоксическим препаратам: доксорубину, цисплатину, метотрексату и 5-фторурацилу (МТТ-тест).

Результаты проведенных экспериментов показали, что сверхэкспрессия семеногелинов отрицательно влияет на миграционный и пролиферативный потенциал клеток. При этом неожиданным для нас оказалось, что сверхэкспрессия SgI вызывала увеличение количества факторов, ассоциированных с повышением миграционной способности клеток – транскрипционного фактора Zeb1 и белка промежуточных филаментов виментина.

При этом сверхэкспрессия как SgI, так и SgII способствовала большей восприимчивости клеток линии H1299 к терапевтическим препаратам, ДНК-повреждающим агентам – доксорубину и цисплатину, однако не влияла на устойчивость клеток к ингибиторам одноуглеродного метаболизма – метотрексату и 5-фторурацилу.

Таким образом, начальные результаты, полученные нами с использованием клеточных моделей, свидетельствуют о неоднозначной биологической роли семеногелинов в развитии легочной карциномы, что требует дальнейшего изучения.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 17-75-10205).*

## Ассоциация экспрессии микроРНК с развитием метастазов при раке желудка

Ф.М. Кипкеева<sup>1</sup>, Т.А. Музаффарова<sup>1</sup>, М.П. Никулин<sup>2</sup>,  
С.Н. Неред<sup>2</sup>, М.Н. Нариманов<sup>2</sup>, О.А. Малихова<sup>2</sup>,  
И.С. Стилиди<sup>2</sup>, А.В. Карпухин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва

Высокая вероятность раннего метастазирования опухоли при раке желудка (РЖ) – одна из причин неблагоприятного исхода этого заболевания. Это указывает на важность выявления биомаркеров, которые позволили бы предсказать риск развития метастазов РЖ.

МикроРНК являются регуляторными молекулами, принимающими участие во всех аспектах жизнедеятельности клетки. Они могут быть связаны с возникновением онкологических, аутоиммунных заболеваний и воспалительных реакций. В развитии опухолевого процесса микроРНК могут выступать как онкогены или супрессоры злокачественного новообразования. Вследствие их размеров, тканевой специфичности функционирования и относительной стабильности

в биологических жидкостях эти молекулы могут служить биомаркерами для выявления и мониторинга РЖ.

В связи с этим изучена экспрессия микроРНК miR21, miR34a, miR141, miR146a, miR155, miR222 и miR335 в метастатическом (диссеминированном) РЖ и опухолях без метастазов. Уровень экспрессии микроРНК оценивали методом количественной ПЦР в реальном времени в парных образцах нормальной и опухолевой ткани желудка. Материал получен при биопсии или во время операции пациентов, проходивших лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета стандартных программ Statistica 10.

Обнаружено, что уровни экспрессии исследуемых микроРНК были снижены в образцах метастатического РЖ по сравнению с неметастатическим. Найдена ассоциация уровней экспрессии miR34a, miR146a и miR335 с метастазированием при РЖ ( $p = 0,04; 0,03; 0,01$  соответственно). Эти микроРНК в ряде случаев функционируют как супрессоры опухоли, и нарушение их экспрессии может быть ассоциировано с опухолевой прогрессией.

Таким образом, miR34a, miR146a и miR335 могут являться кандидатами в биомаркеры прогноза развития метастазов РЖ.

## Реорганизация актинового цитоскелета и межклеточных адгезионных контактов на ранних стадиях эпителиально-мезенхимального перехода

Н.И. Литовка, И.Ю. Житняк, С.Н. Рубцова,  
Н.А. Глушанкова

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

Эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) считается главным механизмом расселения раковых клеток из первичной опухоли. В последние 2–3 года кардинально изменились представления о роли и месте ЭМП в опухолевой прогрессии. Все больше появляется доказательств того, что пусковым моментом метастазирования является инициация программы ЭМП, переводящая опухолевые клетки в гибридное (эпителиально-мезенхимальное) состояние.

Динамику процесса ЭМП *in vitro*, изменения межклеточной адгезии и миграции, перестройки актинового цитоскелета в ходе ЭМП изучали в культуре клеток IAR-20, обработанных эпидермальным фактором роста (epidermal growth factor, EGF). EGF, без включения транскрипционных факторов ЭМП, в течение 10–20 мин индуцировал превращение эпителиоцитов

IAR-20 в мигрирующие клетки. Как показали видеомикроскопические исследования, уже на самых ранних этапах ЭМП нарушалась адгезия между эпителиальными клетками, утрачивался контактный паралич, клетки приобретали миграционный фенотип. С помощью конфокальной микроскопии детектирована быстрая (за 5–10 мин) разборка актиновых пучков, ассоциированных со стабильными межклеточными адгезионными контактами (АК). В зонах межклеточных взаимодействий уже через 5–10 мин после добавления EGF в среду появлялись динамичные ламеллы. В клетках возникал ретроградный ток актина, проявлением которого было центростремительное перемещение частиц, прикрепившихся к клеточной поверхности в зоне межклеточного контакта. При действии EGF E-кадгериновые АК полностью не разбирались, а замещались нестабильными радиальными АК, сохраняющими E-кадгерин. Динамичные радиальные E-кадгериновые АК, с одной стороны, позволяют клеткам с эпителиально-мезенхимальным фенотипом реализовать способность к индивидуальной миграции, с другой стороны, могут объединять клетки для коллективной миграции. С помощью иммунофлуоресцентного окрашивания было обнаружено накопление механосенсорного белка зиксина в зонах радиальных АК клеток с гибридным фенотипом в отличие от стабильных тангенциальных АК эпителиальных клеток в контроле.

Проведенные исследования показали, что ЭМП может быть очень быстрым, динамичным процессом, который приводит к разрушению стабильной межклеточной адгезии и появлению у эпителиальных клеток миграционного фенотипа, несмотря на сохранение эпителиальных маркеров.

## Динамическое изменение экспрессии VEGF-C при формировании множественной лекарственной устойчивости

Н.И. Моисеева<sup>1</sup>, М.О. Беляева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва

**Введение.** Множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) является одним из основных препятствий на пути успешного лечения больных со злокачественными новообразованиями. Ранее нами показано, что в устойчивых линиях некоторых солидных опухолей увеличивается экспрессия фактора роста эндотелия сосудов С (VEGF-C). Он рассматривается в качестве главного посредника лимфангиогенеза и участвует в процессах канцерогенеза и метастазирования, однако его роль в МЛУ только начинают изучать.

**Цель работы** — исследование изменения уровня экспрессии матричной РНК (мРНК) гена *VEGF-C* при приобретении устойчивости, а также оценка влияния подавления экспрессии этого гена на экспрессию генов ABC-транспортеров и генов системы VEGF — VEGFR в чувствительных и устойчивых к доксорубину клетках.

**Материалы и методы.** Использовали культуру клеток HBL-100 (PMЖ) и их устойчивые к доксорубину варианты HBL-100/DOX100, HBL-100/DOX400. Уровень резистентности клеток определяли с помощью МТТ-теста, для подавления экспрессии гена *VEGF-C* применяли esiRNA (Sigma-Aldrich), экспрессию генов оценивали с использованием ПЦР в реальном времени.

**Результаты.** Обнаружено, что экспрессия мРНК гена *VEGF-C* достоверно выше в клетках HBL-100/DOX100 ( $IC_{50dox} = 9$  мкМ) по сравнению с родительской линией HBL-100 ( $IC_{50dox} = 0,5$  мкМ), однако в более устойчивых клетках HBL-100/DOX400 ( $IC_{50dox} = 34$  мкМ) экспрессия *VEGF-C* возвращалась к исходному уровню. Более того, при постепенной потере резистентности при культивировании HBL-100/DOX100 (уменьшение  $IC_{50dox}$  до 3,5 мкМ) экспрессия мРНК *VEGF-C* также снижалась. Однако после повторной селекции с доксорубином и увеличением резистентности повышалась и экспрессия мРНК *VEGF-C*.

Подавление экспрессии гена *VEGF-C* приводит к различным эффектам в родительских и устойчивых вариантах HBL-100. Так, в HBL-100 увеличивается экспрессия VEGFR-2, тогда как в устойчивых вариантах этого не происходит. В HBL-100/DOX100 подавление экспрессии гена *VEGF-C* приводит к снижению продукции генов ABC-транспортеров *MDR-1* и *BCRP*.

**Заключение.** Экспрессия мРНК *VEGF-C* динамически изменяется в резистентных опухолевых клетках. Увеличение экспрессии *VEGF-C* отмечается только в момент формирования МЛУ, но не обнаруживается ни при стабильно высоком уровне устойчивости, ни при его падении.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 16-34-01351/17 мол\_а).*

## Связь экспрессии генов сомато-стволового перехода в опухоли молочной железы с метастазированием

Ю.А. Небова<sup>1</sup>, М.К. Ибрагимова<sup>1,2</sup>, М.М. Цыганов<sup>2</sup>,  
Н.В. Литвяков<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГАУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет»;

<sup>2</sup>НИИ онкологии ФГБНУ «Томский НИМЦ РАН», Томск

**Актуальность.** В наших предыдущих исследованиях было высказано предположение о том, что только опухолевые клетки, которые приобрели способность

к обратному переходу из соматических опухолевых клеток в опухолевые стволовые клетки, способны метастазировать.

**Цель исследования** — изучение связи экспрессии в опухоли молочной железы при проведении НХТ генов сомато-стволового перехода (5p15.33 *TERT*, 6p21.31 *OCT3*, 7q32.1 *SMO*, 8q24.21 *MYC*, 8q11.21 *SNAI2*, 9p21.2 *MOB3B*, 9q22.33 *TGFBR1*, 9q31.2 *KLF4*, 10p11.23 *BM11*, 10p13 *VIM*, 13q12.2 *FLT3*, 16p11.2 *LAT*, 18q21.1 *SMAD2*, 19p13.3 *LMNB2*, 19p13.13 *KLF1* и 19q13.2 *TGF-β1*) с клинико-морфологическими параметрами заболевания и метастазированием.

**Материалы и методы.** Были обследованы 62 больных PMЖ с морфологически верифицированным диагнозом и клинической стадией ПА–PIB, которые получали НХТ по схемам FAC, CAH или таксотер. Производили забор биопсийного материала до лечения и операционный материал после НХТ. Уровень экспрессии генов сомато-стволового перехода оценивали с помощью количественной обратной-транскриптазной ПЦР в режиме реального времени по технологии TaqMan.

**Результаты.** Обнаружена связь возраста больных, рецепторного статуса и молекулярного подтипа с изменением экспрессии отдельных генов сомато-стволового перехода в процессе НХТ. Показана предиктивная значимость экспрессии генов *KLF1* и *TGFBR1* в опухоли молочной железы до лечения в отношении непосредственной эффективности НХТ. У больных с метастазированием 14 из 16 изученных генов сомато-стволового перехода оказываются гиперэкспрессированными после проведения НХТ. Одновременная гиперэкспрессия генов *OCT3*, *LAT* и *LNMB2* в остаточной резидуальной опухоли после НХТ сопряжена с неблагоприятным исходом. Эти данные подтверждают значение экспрессии генов сомато-стволового перехода для метастазирования опухолей.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 17-15-01203).*

## Создание трехмерной модели опухоли *in vitro*

А.Р. Рахматуллина, Р.Р. Мифтахова, А.А. Ризванов  
ФГАУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань

Трехмерные модели клеточных культур (сфероиды) могут стать потенциальными системами для исследования роста и биологии опухолевых клеток. Опухолевые сфероиды — структуры, обеспечивающие поддержание стволовых опухолевых клеток за счет деления единичных раковых стволовых клеток в специализированной среде. Также сфероиды наиболее приближены к естественной опухоли за счет наличия в них различных зон кислородного питания.

Задача исследования заключалась в создании трехмерной гетерогенной модели опухоли *in vitro* для изучения процессов регуляции роста и развития трансформированных клеток.

В ходе данной работы создана трехмерная модель опухоли, в основе которой лежат культура мезенхимальных стволовых клеток (MSC) и клетки карциномы предстательной железы (PC3). Проведена трансдукция клеток PC3 геном синего флуоресцентного белка (BFP) и MSC геном зеленого флуоресцентного белка (GFP). Анализ полученных моноклональных линий PC3-BFP и MSC-GFP включал оценку пролиферативной активности клеток и содержания стволовых опухолевых клеток в популяции. Отобранные в результате тестов клеточные линии были исследованы в двух- и трехмерных моделях кокультур. Оценивали цитокиновый профиль супернатанта моно- и кокультур клеток PC3-BFP и MSC-GFP. При кокультивировании клеток наблюдается снижение уровней провоспалительных цитокинов ИЛ-6, ИЛ-8 и интерферона  $\gamma$ .

Кроме того, исследованы цитотоксическое действие препаратов на сфероиды, состоящие из клеток PC3-BFP, и кокультивирование данных клеток с MSC-GFP. Чувствительность к доцетакселу, топотекану и 5-фторурацилу при кокультивировании снижалась на 16,0; 33,6 и 15,9 % соответственно.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 16-34-60210).*

## Активзависимое влияние опухолевого супрессора p53 на свойства и метастазирование клеток рака легкого человека

Н. В. Хромова<sup>1</sup>, В. Б. Дугина<sup>2</sup>, П. Б. Копнин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>НИИ физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского  
ФГБОУ ВО «МГУ им. М. В. Ломоносова», Москва

**Введение.** Усиление выраженности злокачественных свойств опухолевых клеток может быть вызвано смещением баланса цитоплазматических изоформ актина ( $\beta$ - и  $\gamma$ -) за счет увеличения доли  $\gamma$ -актина. Нами показано, что преобладание  $\gamma$ -актина в неопластических клетках приводит к опухолевой прогрессии за счет активации ERK1/2-сигнального каскада, также как и Ras-зависимая активация ERK1/2 сопровождается увеличением доли  $\gamma$ -актина и снижением  $\beta$ -актина. Вероятно, существует механизм положительной обратной связи между активацией MAP-киназ и количеством  $\gamma$ -актина, гиперэкспрессия которого может представлять собой универсальную злокачественную особенность. Поскольку активация MAP-киназ наблюдается во многих новообразованиях человека в ответ

на активацию онкогенов и/или инактивацию опухолевых супрессоров, важно выявление механизмов, приводящих к смещению баланса цитоплазматических изоформ актина и усилению злокачественных свойств неопластических клеток.

**Задачи исследования.** Изучить свойства неопластических клеток, вызванные нарушением функции опухолевого супрессора p53: изменение цитоскелета, миграцию и инвазию, скорость роста *in vitro* и *in vivo*, метастазирование, а также выявить механизмы, лежащие в основе этих изменений.

**Материалы и методы.** На основе линии рака легкого A549 были получены сублинии, экспрессирующие экзогенные мутантные белки p53 с аминокислотными заменами в горячих точках мутаций (кодоны 175, 248, 273), а также сублиния с подавленной экспрессией TP53. На основе линии рака легкого H1299, в которой не экспрессируется p53, была получена сублиния с экзогенно-восстановленной экспрессией p53 дикого типа.

**Результаты.** Инактивация нормальной функции p53 при экзогенной экспрессии его мутантных форм, обладающих доминантно-отрицательным эффектом, как и подавление экспрессии TP53 в клетках A549, приводит к увеличению миграции и инвазии, пролиферации клеток, скорости роста подкожных ксенографтов и увеличению метастазирования внутрилегочных ксенографтов у бестимусных мышей. Экзогенная экспрессия TP53 дикого типа в p53-отрицательных клетках H1299, наоборот, подавляет их пролиферацию и миграцию, существенно снижает их ортогипическую прививаемость и метастазирование. Изменение подвижности клеток (миграция *in vitro* и метастазирование в опытах на мышцах) связано с изменением актинового цитоскелета (баланса изоформ актина). По-видимому, смещение баланса в сторону  $\gamma$ -актина, увеличивающее клеточную подвижность, происходит в результате активации ERK1/2 в клетках с нарушениями p53 и приводит к проявлению более злокачественных свойств клеток.

**Выводы.** Реорганизация актинового цитоскелета за счет увеличения доли  $\gamma$ -актина стимулирует опухолевую прогрессию и метастазирование в результате нарушения функции опухолевого супрессора p53 и активации MAP-киназ и может являться универсальной характеристикой неопластических клеток.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант №14-15-00467).*

## Изучение роли транскрипционного фактора Snail в устойчивости клеток рака молочной железы к гипоксии

М.А. Ястребова<sup>1</sup>, А.И. Хамидуллина<sup>1</sup>, А.М. Щербаков<sup>2</sup>,  
В.В. Татарский<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Кафедра клеточной биологии и гистологии, биологический факультет ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** Состояние гипоксии возникает в процессе развития опухоли, способствуя опухолевому росту и ЭМП. Транскрипционные факторы семейства Snail – важнейшие стимуляторы ЭМП, опухолевой прогрессии, миграции и инвазии. Понимание взаимосвязи этих процессов может помочь создать теоретическую основу для разработки новых подходов к терапии рака.

**Задачи исследования.** Изучить роль транскрипционного фактора Snail в устойчивости к гипоксии в клетках РМЖ.

**Результаты.** В условиях гипоксии происходит увеличение количества белка Snail ядерной локализации, наблюдается перераспределение E-кадгерина по ци-

топлазме,  $\beta$ -катенин частично транслоцируется в ядро. С помощью МТТ-теста показано, что выключение гена транскрипционного фактора Snail приводит к уменьшению доли выживших клеток в гипоксии. При увеличении гипоксии (<1 %) стабильность Snail снижается, уменьшая его влияние на устойчивость. Snail оказывает влияние на клеточный цикл культур РМЖ, вызывая задержку около 10 % клеток в S-фазе клеточного цикла. С помощью ген-репортерного анализа показано, что трансдукция Snail в клетки MCF-7 приводит к значительной репрессии промоторного региона гена E-кадгерина. Продолжается исследование соединения GN25 как специфического разобщителя связи между Snail и опухолевым супрессором p53. Данное соединение в гипоксии оказывает меньший цитотоксический эффект, чем при нормальных условиях культивирования. Разобщение Snail и p53 вызывает одновременную их активацию, белков активации апоптоза и нарушение экспрессии E-кадгерина.

**Выводы.** Направленное ингибирование данного транскрипционного фактора, а также Snail-ассоциированных сигнальных путей можно рассматривать как возможный подход к регуляции роста и метастазирования опухолей с гипоксическими регионами.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 15-04-02172).*

## Тезисы

### Низкомолекулярные регуляторные пептиды (адипокины, миокины) и система «повреждение ДНК/сохранность генома» при раке эндометрия: роль избыточной массы тела и фенотипа ожирения

Л.М. Берштейн, А.Г. Иевлева, Т.Е. Порошина,  
Д.А. Васильев, И.М. Коваленко

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова»  
Минздрава России, Санкт-Петербург

**Введение.** Малые пептиды, нередко причисляемые к семейству цитокинов, продуцируются, в частности, жировой и мышечной тканью и привлекают внимание и в области онкологии. Ранее нами было показано, что содержание в циркуляторном русле адипокинов лептина, адипонектина, оментина, префилина, ИЛ-6 (в меньшей степени заслуживающего включения в группу провоспалительных цитокинов), миокина/миостатина и миокина/адипокина ирисина в различной степени связано с дифференцировкой и стадией рака эндометрия, на что оказывают влияние масса тела и принадлежность к группам «стандартного» (ассоциированного с инсулинорезистентностью) или «метаболически здорового» ожирения (Берштейн, 2017).

**Задачей исследования** была попытка установить, опосредованы ли эти связи потенциальной медиаторной ролью системного повреждения ДНК и механизмов сохранности хромосом при участии теломер.

**Материалы и методы.** Обследовали 86 нелеченых больных раком эндометрия преимущественно старше 50 лет. Содержание 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина (8-OHdG) в сыворотке крови, взятой натощак, определяли методом ИФА (ELISA kit, Enzo Life Sciences), который использовали и при оценке уровня изучавшихся пептидов. Мононуклеары из венозной крови выделяли в одноступенчатом градиенте плотности в системе фиколл/верографин (Лимфопреп, Sigma) и проводили в них автоматизированную оценку момента «хвоста комет» и процента ДНК в «хвосте», а также определяли относительную длину теломер с помощью количественной ПЦР по методу Sawthorn et al (2002).

**Результаты.** В крови всех больных раком эндометрия уровень маркера оксидативного повреждения ДНК 8-OHdG положительно коррелировал с концентрацией лептина и отрицательно — с концентрацией ирисина, в то время как изучавшиеся характеристики «комет» закономерных связей не продемонстрировали.

В группе больных со «стандартным» ожирением прямо пропорциональную связь с процентом «комет» и моментом их «хвоста» демонстрировало содержание префилина, тогда как обратно пропорциональную с длиной теломер — концентрация миостатина. В группе «метаболически здорового» ожирения положительная корреляция с процентом «комет» была свойственна уровням лептина и ИЛ-6, а отрицательная — уровням адипонектина и префилина. Наконец, в группе пациентов без ожирения (индекс массы тела <25,0 кг/м<sup>2</sup>) с характеристиками «комет» положительно коррелировало содержание лептина и ирисина и отрицательно — адипонектина, миостатина и оментина, а обратно пропорционально с длиной теломер — концентрация лептина, ирисина и ИЛ-6.

**Выводы.** Таким образом, одними из возможных модифицирующих факторов, определяющих характер связи между изучавшимися регуляторными пептидами (адипокинами и миокинами) и клиническими особенностями рака эндометрия, являются (на основе вовлечения механизмов системного повреждения ДНК/сохранения целостности генома) антропометрические параметры и фенотип ожирения. Это заслуживает изучения с учетом обновленных современных представлений о подразделении рака тела матки на отдельные типы (Murali et al, 2014; Talhouk et al, 2016; Berstein 2017).

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 15-04-00384).*

### Экспрессия виментина в культурах клеток эпителиальных опухолей

Т.А. Богуш<sup>1</sup>, С.А. Калужный<sup>1</sup>, М.Р. Четыркина<sup>2</sup>,  
М.А. Ястребова<sup>1,2</sup>, А.М. Щербаков<sup>1</sup>,  
И.Г. Воробьева<sup>1</sup>, А.А. Каменский<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва

**Введение.** ЭМП — один из важнейших признаков агрессивности опухолевого процесса, который ассоциирован с повышением метастатического потенциала опухолевых клеток и снижением чувствительности к противоопухолевой терапии. Одним из маркеров ЭМП является экспрессия *de novo* мезенхимального белка виментина. Ранее мы показали, что в опухолевых клетках, полученных из асцитической жидкости больных раком яичников (РЯ), значительно повышается экспрессия данного белка по сравнению с первичным солидным новообразованием.

**Задачи исследования.** Определить, сохраняется ли высокий уровень экспрессии виментина в эпителиальных опухолевых клетках, полученных из трансцеллюлярных жидкостей, при адаптации к росту *in vitro*.

**Материалы и методы.** Исследованы культуры клеток, полученных из плевральной жидкости (MCF-7), молозива (HBL-100), солидного узла (BT-474) больных РМЖ и асцитической жидкости (SCOV-3) пациентки с РЯ. Референсный контроль — клетки из солидного узла и асцитической жидкости больной РЯ. Для иммунофлуоресцентного анализа, ассоциированного с проточной цитофлуориметрией, использованы первичные антитела к виментину (SP20) и вторичные — DL650 (ab98510). Уровень экспрессии (количество специфически флуоресцирующих клеток относительно показателя в контроле при инкубации с вторичными антителами) анализировали с помощью критерия Колмогорова—Смирнова. Индекс экспрессии (усл. ед.) оценивали как произведение уровня и интенсивности экспрессии маркера.

**Результаты.** Уровень экспрессии виментина оказался минимальным в клетках линий MCF-7 и BT-474 — на уровне показателей экспрессии маркера в клетках, полученных из солидного узла больной РЯ. В клетках SCOV-3 уровень экспрессии виментина достигал 60 % при индексе показателя около 2,5 усл. ед. В клетках HBL-100 уровень экспрессии виментина превысил 80 %, индекс экспрессии составил >5 усл. ед. Для сравнения: в референсных клетках, полученных из асцитической жидкости больной РЯ, уровень и индекс экспрессии виментина составили соответственно 90 % и 10 усл. ед.

**Выводы.** При адаптации к росту *in vitro* в эпителиальных опухолевых клетках, полученных из трансцеллюлярных жидкостей, экспрессия мезенхимального маркера виментина может утрачиваться (клетки MCF-7), регистрироваться на умеренном или достаточно высоком уровне (клетки SCOV-3 и HBL-100 соответственно), таким образом в разной степени выраженности сохраняя признак ЭМП, присущий «исходному» опухолевому материалу. Этот факт необходимо учитывать при молекулярных исследованиях на культурах клеток эпителиальных опухолей.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 15-04-06991-а, 15-04-02172-а, 16-34-01049-мол-а).*

## Особенности экспрессии транскрипционного фактора FOXA1 при люминальном раке молочной железы, связь с лимфогенным метастазированием

Д.М. Васильченко<sup>1</sup>, С.В. Вторушин<sup>1,2</sup>, К.Ю. Христенко<sup>1,2</sup>, Н.В. Крахмаль<sup>1,2</sup>, И.В. Степанов<sup>1,2</sup>, М.В. Завьялова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск;

<sup>2</sup>НИИ онкологии ФГБНУ «Томский НИМЦ РАН», Томск

**Введение.** РМЖ занимает лидирующую позицию в структуре онкологической заболеваемости у женщин в мире. Актуальным остается изучение вариантов прогрессирования данной патологии, и в частности, лимфогенного метастазирования. На сегодняшний день на первый план выходит изучение маркеров клеточной дифференцировки, регуляторов пролиферации. Одним из таких маркеров является FOXA1 — транскрипционный фактор, играющий важную роль в дифференцировке и пролиферативной активности люминальных клеток молочной железы, являясь, по сути, опухолевым супрессором.

**Задачи исследования.** Изучение взаимосвязи экспрессионных характеристик FOXA1 с параметрами лимфогенного метастазирования у пациентов с люминальным типом РМЖ.

**Материалы и методы.** В исследование включен биопсийный и операционный материал от 64 больных инвазивным люминальным РМЖ. Применяли морфологический и иммуногистохимический методы, стандартные статистические подходы.

**Результаты.** Исследование связи экспрессионных характеристик изучаемого маркера с частотой лимфогенного метастазирования при опухолях данного субтипа показало, что метастатическое поражение лимфатических узлов сопряжено с процентом экспрессии FOXA1 в опухолевых клетках. При этом выявлена следующая тенденция: низкий ( $88,3 \pm 23,2$ ) процент экспрессии FOXA1 в опухолевых клетках ассоциирован с большим риском развития лимфогенных метастазов, высокий ( $96,2 \pm 12,1$ ) — с отсутствием лимфогенного метастазирования ( $F = 4,6; p = 0,07$ ). Частота лимфогенного метастазирования не зависела от характера и интенсивности экспрессии указанного транскрипционного фактора в опухолевых клетках люминального РМЖ.

**Выводы.** Полученные результаты демонстрируют потенциальную возможность использования маркера FOXA1 для оценки риска развития лимфогенного метастазирования у больных люминальным РМЖ.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ № МД-9084.2016.7.*

## Стероидные гормоны являются регуляторами факторов роста в опухолях при полинеоплазиях женских репродуктивных органов

М.И. Верескунова, Е.М. Франциянц, Т.И. Моисеенко,  
В.А. Бандовкина, Н.Д. Черярина,  
Л.Я. Розенко, М.Б. Козлова

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

**Введение.** Известно, что половые гормоны могут влиять на синтез ростовых факторов в опухолях молочной железы и матки, однако их взаимосвязь при полинеоплазиях практически не изучена.

**Задачи исследования.** Изучение взаимосвязи половых стероидов и факторов роста в тканях новообразований при самостоятельном и сочетанном росте злокачественной опухоли молочной железы и миомы матки.

**Материалы и методы.** В тканях РМЖ ( $n = 37$ ), миомы матки ( $n = 27$ ) и при синхронно развивающихся РМЖ и миомы матки ( $n = 36$ ) методом ИФА определяли уровень эстрогенов (E1, E2, E3), гидроксиметаболитов эстрогенов (2ОНЕ1 и 16 $\alpha$ -ОНЕ1), прогестерона (P4), васкулоэндотелиального фактора роста и эпидермального фактора роста (VEGF, EGF).

**Результаты.** При синхронно развивающихся процессах выявлен высокий уровень положительных корреляционных связей в ткани РМЖ и миомы матки: уровня E3 с VEGF ( $r_1 = 83, r_2 = 79; p_{1,2} < 0,05$ ) и EGF ( $r_1 = 78, r_2 = 82; p_{1,2} < 0,05$ ), уровня E1 с VEGF ( $r_1 = 81, r_2 = 77; p_{1,2} < 0,05$ ) и EGF ( $r_1 = 76, r_2 = 80; p_{1,2} < 0,05$ ), 16-ОНЕ1 с VEGF ( $r_1 = 80, r_2 = 77; p_{1,2} < 0,05$ ) и EGF ( $r_1 = 79, r_2 = 80; p_{1,2} < 0,05$ ). Сильную отрицательную корреляционную связь имел уровень E3 с VEGF ( $r_1 = -80, r_2 = -77; p_{1,2} < 0,05$ ) и EGF ( $r_1 = -79, r_2 = -80; p_{1,2} < 0,05$ ), а также P4 с VEGF ( $r_1 = -81, r_2 = -79; p_{1,2} < 0,05$ ) и EGF ( $r_1 = -77, r_2 = -80; p_{1,2} < 0,05$ ). В ткани РМЖ при самостоятельном процессе выявлен средний уровень положительных корреляционных связей между E2 и E1 с VEGF ( $r_1 = 56, r_2 = 63; p_{1,2} < 0,05$ ) и EGF ( $r_1 = 61, r_2 = 65; p_{1,2} < 0,05$ ), а также умеренная отрицательная корреляционная связь между VEGF и EGF с P4 ( $r_1 = -61, r_2 = -59; p_{1,2} < 0,05$ ). В ткани миомы матки в самостоятельном варианте отмечена высокая отрицательная корреляционная связь содержания EGF с уровнем E1 и 16-ОНЕ1 ( $r_1 = -79, r_2 = -76; p_{1,2} < 0,05$ ).

**Выводы.** Таким образом, при полинеоплазиях тканей РМЖ и матки имели сходные коррелятивные связи уровня ростовых факторов и половых гормонов. В самостоятельном варианте в тканях РМЖ и миомы матки обнаруживали свойственные виду и типу опухоли корреляционные связи. Можно заключить, что при полинеоплазиях, в отличие от самостоятельных опухолей, экспрессия ростовых факторов подчинена

четко детерминированной регуляторной роли стероидов и их метаболитов.

## Экспрессия индуцибельной и эндотелиальной NO-синтаз в зависимости от скорости роста карциномы Эрлиха

В.П. Дерягина, Л.А. Савлущинская, И.С. Голубева,  
Н.И. Рыжова

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** Индуцибельная NO-синтаза (iNOS) и эндотелиальная NO-синтаза (eNOS) часто имеют повышенную экспрессию в злокачественных опухолях различных органов человека. Продуцируемый NO-синтазами оксид азота и его метаболиты, активные формы азота (АФА) — нитриты, пероксинитрит, окислы азота, нитрозосоединения и др. — могут оказывать разнонаправленный эффект на опухолевый процесс, в зависимости от их концентрации, экспозиции, реакций с ключевыми реагентами, мишенями и т. д.

**Задачи исследования.** Сравнительный анализ экспрессии iNOS и eNOS в перевиваемых опухолях, отличающихся скоростью роста, у мышей.

**Материалы и методы.** Исследование проведено на 100 мышках-самцах линий F1 (CBA/LacxС57BL/6), далее F1, и F1 (C57BL/6xDBA/2), далее BDF, с подкожно перевитой карциномой Эрлиха (КЭ). Экспрессию iNOS и eNOS определяли в динамике иммуногистохимическим методом в парафиновых микросрезках опухолей.

**Результаты.** Показано, что экспрессия iNOS практически не выявлялась в медленно растущей КЭ у мышей BDF, и только на терминальной стадии (35-е сутки) мы наблюдали положительную реакцию на фермент. В опухолях у всех мышей F1, отличающихся ускоренным ростом опухоли (масса опухолей была в 2,26–5,36 раза больше, чем у мышей BDF), экспрессию iNOS обнаружили в 29,2–46,2 % опухолевых клеток, преимущественно в цитоплазме. Усиление экспрессии iNOS до умеренной регистрировали на 24-е сутки роста КЭ у мышей F1. Инкубирование микросрезков опухолей с первичными антителами к eNOS, а затем с провяочной тест-системой выявило окрашивание 28,5–35,0 % опухолевых клеток (на 10-е и 17-е сутки), а также эндотелия сосудов (на 10, 17 и 24-е сутки) у мышей F1.

**Выводы.** Таким образом, результаты исследования показывают, что более интенсивный рост КЭ сопровождается положительной экспрессией iNOS и eNOS, что может указывать на их стимулирующую роль в прогрессии опухолей. Участие iNOS/NO в ускорении опухолевого роста может осуществляться вследствие

повреждения активных форм азота молекулы ДНК, влияния на онкогенные сигнальные пути, пролиферацию, инициирование апоптоза и др. Активированная eNOS может вовлекаться в инициирование и поддержание опухолевого роста через стимулирование ангиогенеза, нитрозирование онкобелков и других механизмов.

## Наличие и отсутствие метастаза в печень влияет на содержание урокиназы и $\alpha_2$ -макроглобулина в первичной аденокарциноме прямой кишки

О.И. Кит, А.А. Маслов, Е.М. Франциянц, Е.Н. Колесников, Е.А. Никипелова, Л.С. Козлова, В.А. Бандовкина, И.В. Каплиева, Л.К. Трепитаки

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

**Введение.** В каскадной системе фибринолиза активаторы плазминогена (ПГ) занимают ключевую позицию. Показано, что активаторы ПГ вместе с плазмином непосредственно и опосредованно участвуют в опухолевом росте.

**Задачи исследования.** Сравнение системы активации ПГ в первичной аденокарциноме (ПА) прямой кишки без метастазов и в опухолях, имеющих метастаз в печень.

**Материалы и методы.** Методом ИФА исследовали ткань опухоли (стадия III, G2) и ее перифокальную зону (ПЗ) при наличии (T2–3NxM1;  $n = 24$ ) и отсутствии (T2–3N0M0;  $n = 32$ ) метастазов.

**Результаты.** Исследуемые показатели в условно интактной ткани прямой кишки по линии резекции с наличием метастазов и без них не имели достоверных различий. В ткани ПА при наличии метастазов содержание комплекса плазмин –  $\alpha_2$ -антиплазмин (РАР) было выше в 1,4 раза, чем без них ( $p < 0,05$ ). Уровни ключевых активаторов ПГ – проурокиназы и урокиназы (uPA-АГ и uPA-акт) – по линии резекции были выше в 12,4 и 3,7 раза, чем в ткани ПА. Вместе с тем содержание uPA-АГ и uPA-акт в ткани ПА при наличии метастазов было выше в 1,4 и 1,6 раза, чем без метастазов. Содержание ПГ и активность  $\alpha_2$ -макроглобулина ( $\alpha_2$ М) в ПА при наличии метастазов были ниже в 1,5 и 2,7 раза, чем без метастазов, и ниже, чем в ткани ПА по линии резекции ( $p < 0,01$ ). В ткани ПА при наличии метастазов все исследованные показатели, кроме  $\alpha_2$ М, активированы в большей степени, чем без метастазов. Низкое содержание  $\alpha_2$ М предполагает реализацию свойств uPA и плазмина при недостаточном ингибиторном контроле.

В ткани ПЗ при наличии метастазов большинство показателей занимали промежуточное положение меж-

ду таковыми в ткани ПА и области линии резекции, имея значительные достоверные различия от обоих образцов и достоверно превышая данные ПЗ без метастазов. Исключением стал  $\alpha_2$ М, который в ПЗ с метастазами был в 1,8 раза ниже, чем без них. Результаты свидетельствуют о более высоком содержании uPA и РАР в ПА и ее ПЗ при наличии метастазов, чем без них, с повышением расхода ПГ и сниженной активностью  $\alpha_2$ М в этих областях прямой кишки. Ткань ПА с наличием метастазов имеет ту же направленность активации системы ПГ, которые развиваются в ткани ПА при отсутствии метастазов.

**Выводы.** Уровни uPA и РАР, а также низкое содержание  $\alpha_2$ М в ПА и ПЗ при наличии метастазов могут служить показателем метастатической активности опухоли.

## Связь остеолитических метастазов рака молочной железы с кининовой системой и ингибиторами плазмы крови

Л.С. Козлова, О.И. Кит, Е.М. Франциянц, А.А. Барашев, М.И. Верескунова, Л.Я. Розенко

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

**Введение.** Возникновение костных метастазов связано с особенностями костной ткани: хорошим кровоснабжением, постоянными процессами костеобразования и остеолитизиса. Механизм развития остеолитических метастазов малоизучен, обязательным их компонентом является вялотекущее воспаление как результат резорбции костной ткани.

**Задачи исследования.** Изучение калликреин-кининовой системы, трипсиноподобных протеиназ и универсальных ингибиторов плазмы крови при солитарных остеолитических метастазах РМЖ.

**Материалы и методы.** Исследована цитратная плазма крови 33 больных РМЖ 38–72 лет с солитарными остеолитическими метастазами (pT3–4NxM1) и 32 доноров (N) до операции, после операции (1-е и 7-е сутки) и в отдаленный период (1 и 6 мес после выписки). Анализ данных выполняли в программе Statistica 10.0.

**Результаты.** До лечения активность калликреина была резко повышена относительно нормы, при сниженном уровне прекалликреина, без выраженной динамики в течение всего наблюдения. Активность кининразрушающего фермента карбоксипептидазы была в 2,7 раза ниже нормы, в 1-е сутки продолжала снижаться, в дальнейшем достоверно повышалась, не достигая нормы. Это способствовало более длительному существованию брадикинина в циркуляции, а также проявлению биологических свойств его и калликреина. Общая активность трипсиноподобных протеиназ плазмы

крови больных до лечения превышала N в 3,4 раза и сохранялась на высоком уровне в течение всего периода наблюдения. Активность  $\alpha_2$ -макроглобулина до лечения была снижена в 2,0 раза относительно N, после операции сохранялась низкой с постепенным повышением к концу наблюдения. До лечения  $\alpha_1$ -протеиназный ингибитор был ниже N в 1,9 раза и сохранялся пониженным в течение всего периода наблюдения.

**Выводы.** При развитии остеолитических метастазов рака различной локализации длительная активация калликреин-кининовой системы приводит к истощению прекалликреина в плазме крови, сохранению высокой активности калликреина при снижении активности кининразрушающего фермента и универсальных ингибиторов  $\alpha_2$ -макроглобулина и  $\alpha_1$ -протеиназного ингибитора. Кининовая система,  $\alpha_2$ -макроглобулин и  $\alpha_1$ -протеиназный ингибитор являются непосредственными участниками процесса формирования остеолитических метастазов.

### Биологические особенности каскада активации плазминогена в ткани рака шейки матки при экзофитном и эндофитном вариантах роста

Л.С. Козлова, О.И. Кит, Е.М. Франциянц, Т.И. Моисеенко, Н.А. Назаралиева, К.П. Бойко, Л.Я. Розенко

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

**Введение.** При развитии рака активируется эндогенный протеолиз, к нему присоединяется активность белков, секретируемых злокачественной опухолью. Ведущую роль в процессах роста и метастазирования опухоли отводят участникам каскада активации плазминогена (ПГ), присутствующим во всех тканях.

**Задачи исследования.** Изучение изменений компонентов системы фибринолиза в опухоли и прилежащих тканях рака шейки матки (РШМ) при экзофитном и эндофитном вариантах роста в сравнительном аспекте.

**Материалы и методы.** Методом ИФА исследовали плазмин, ковалентно связанный с  $\alpha 2$ -антиплазмином (РАР), урокиназный и тканевый активаторы ПГ (uPA-АГ и tPA-АГ – антигены, uPA-акт и tPA-акт – ферменты) в операционном материале РШМ (в опухоли, ее перифокальной зоне и ткани по линии резекции) при экзофитном (экзРШМ,  $n = 17$ , T1b2–2bNxM0) и эндофитном (эндРШМ,  $n = 15$ , T1b2–2bNxM0) вариантах роста. Гистологический контроль проводили в каждом конкретном случае. Уровень ПГ определяли спектрофотометрическим методом. Анализ данных выполняли в сертифицированной прикладной программе Statistica 10.0.

**Результаты.** Ткань из области линии резекции считали условно интактной на основании гистологического подтверждения, с ней сравнивали данные, полученные при изучении опухоли и ее перифокальной зоны. Содержание ПГ во всех образцах ткани имело достоверные различия между экзРШМ и эндРШМ. Уровень РАР был наибольшим в области линии резекции при эндРШМ. В ткани по линии резекции содержание uPA-АГ было одинаковым, в опухоли и ее перифокальной зоне – преобладало при экзРШМ, уровень uPA-акт – выше во всех тканях при эндРШМ. Содержание tPA-АГ при экзРШМ увеличивалось от линии резекции к опухолевому очагу, эндРШМ – уменьшалось. Образование tPA-акт было интенсивнее при эндРШМ, вплоть до истощения в центральной части опухоли.

**Выводы.** При экзРШМ оба активатора ПГ присутствуют во всех исследованных образцах ткани преимущественно в виде антигенов, а при эндРШМ – в виде активных ферментов. Наиболее интенсивное образование плазмина и РАР происходит в ткани из области линии резекции при эндРШМ.

### Возможный механизм изменений уровней экспрессии рецепторов к эстрогену и онкобелка HER2/NEU в опухолевой ткани при регионарном метастазировании карциномы молочной железы

К.В. Конышев, С.В. Сазонов

ГАЗУ СО «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург;

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург

**Задачи исследования.** Оценка изменений уровней экспрессии рецепторов к эстрогену (РЭ) и Her2/neu при регионарном метастазировании РМЖ в группе случаев с неопределенным уровнем экспрессии Her2/neu (2+) в ткани первичной опухоли и попытка предложить механизмы, объясняющие обнаруженные изменения.

**Материалы и методы.** Иммуногистохимическим (ИГХ) методом с антителами к РЭ (клон 1D5, Dako) и Her2/neu (клон 4B5, Ventana) исследовали первичную опухоль и пораженные метастазами регионарные лимфатические узлы от 19 больных инвазивным неспецифическим РМЖ, не получавших неoadъювантную терапию, с неопределенным уровнем экспрессии Her2/neu (2+) в ткани первичной опухоли. Ткань первичной опухоли дополнительно исследовали методом SISH для оценки амплификации гена HER2 (технология Ventana). Результаты оценивали в соответствии с системами оценки Allred (РЭ) и ASCO/CAP 2013 (Her2/neu, HER2), определяли положительный (ИГХ

0/1+ или отсутствие амплификации гена *HER2*) или отрицательный (ИГХ 3+ или амплификация гена *HER2*) Her2/neu-статус опухоли.

**Результаты.** Обнаружено достоверное снижение уровня экспрессии Her2/neu в ткани метастазов (медиана 1+) ( $p = 0,0004$ ; тест Вилкоксона). При этом частота совпадений Her2/neu-статусов первичной опухоли (статус определяли методом SISH) и метастазов (статус определяли ИГХ-методом) составила 84,2 % (95 % доверительный интервал 59,5–95,8 %). Медиана уровня экспрессии РЭ в ткани первичной опухоли составила 5 баллов, в ткани метастазов – 7 баллов по системе Allred при  $p = 0,115$ .

Обнаруженное снижение уровня экспрессии онкобелка Her2/neu и сохранение Her2/neu-статуса РМЖ при регионарном метастазировании в исследованных случаях возникает вследствие формирования метастазов преимущественно из тех клеток опухоли, в которых транскрипция неамплифицированного гена *HER2* подавлена большим количеством молекул РЭ, изменяющих активность коактиваторов транскрипции гена *HER2* – SRC и AP-2γ.

## Изучение экспрессии матриксных металлопротеиназ (ММП-2 и ММП-9) в плоскоклеточном раке гортани

Р.Н. Кулагин<sup>1</sup>, С.В. Петров<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>ГАЗУ «Городская клиническая больница № 7», Казань;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань;

<sup>3</sup>Приволжский филиал ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Казань

**Введение.** Матриксные металлопротеиназы (ММП) играют важную роль в прогрессии злокачественных новообразований, участвуя в разрушении экстрацеллюлярного матрикса, ангиогенезе опухоли, и связаны с факторами роста и молекулами межклеточного взаимодействия.

**Задачи исследования.** Исследовать экспрессию ММП-2 и ММП-9 в плоскоклеточном раке гортани и изучить ее связь с некоторыми клинико-морфологическими показателями и прогнозом заболевания.

**Материалы и методы.** Применяли парафиновые блоки архивного материала, полученного от 201 больного за период с 2000 по 2009 г., с дальнейшим изготовлением 8 ТМА-мультиблоков (технология tissue microarray) и оцифровкой микропрепаратов на сканере Mirax MIDI (Carl Zeiss). Для иммуногистохимического исследования использовали антитела к ММП-2 (MMP-2, 72 kDa Collagenase IV, разведение 1:50, Clone VB3, LabVision Corp.) и ММП-9 (MMP-9, 92 kDa Collagenase IV, разведение 1:35, LabVision Corp.). Для визуализации применяли систему детекции UltraVision с DAB Plus хромогеном (LabVision Corp.).

В 7 случаях наблюдалась I клиническая стадия, в 56 – II, в 95 – III и в 43 – IV. Опухоли со степенью дифференцировки G<sub>1</sub> имели 60 больных, G<sub>2</sub> – 54 и G<sub>3</sub> – 83. Метастазы в регионарные лимфатические узлы отмечены в 45 (22,4 %) случаях.

**Результаты.** Цитоплазматическая экспрессия ММП-2 выявлена в 47,2 % ( $n = 95$ ) случаев, ММП-9 – в 35 % ( $n = 70$ ). В исследуемой группе 5-летняя выживаемость составила 46,7 % ( $n = 94$ ), рецидивы обнаружены в 7,9 % ( $n = 16$ ) случаев.

В низкодифференцированных (G<sub>3</sub>) опухолях наблюдается достоверное снижение экспрессии исследуемых маркеров по сравнению с высокодифференцированными (G<sub>1</sub>) опухолями ( $p < 0,002$ ). Мы обнаружили, что в группе больных с клиническими стадиями III и IV статистически увеличивается экспрессия ММП-2 по сравнению с начальными (I и II) клиническими стадиями ( $p < 0,001$ ). При увеличении размера опухоли наблюдалось повышение экспрессии маркера без статистических различий, однако у пациентов групп T3 и T4 экспрессия ММП-2 статистически выше, чем у больных групп T1 и T2 ( $p < 0,05$ ). У пациентов с метастазами и рецидивами экспрессия ММП-2 была выше, а ММП-9 ниже, но без статистических различий ( $p > 0,05$ ). Мы не выявили связи между 5-летней выживаемостью, локализацией опухоли в гортани и возрастом больных с экспрессией изучаемых маркеров.

**Выводы.** Таким образом, при прогрессировании плоскоклеточного рака гортани наблюдаются повышение уровня экспрессии ММП-2 и снижение уровня экспрессии ММП-9.

## Взаимодействие α2-макроглобулина с калликреином и плазмином в асцитической жидкости при раке яичников

Т.И. Моисеенко, О.И. Кит,  
Е.М. Франциянц, Л.С. Козлова

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

**Введение.** Калликреин считается регулятором многих систем ограниченного протеолиза, но может стать и участником патологии. Плазмин регулирует функции и плотность межклеточного матрикса, ангиогенез, созревание половых клеток, санацию полостей, тканей и жидкостей организма, развитие воспаления и злокачественных опухолей. Молекулярная составляющая эндогенной защиты организма – α<sub>2</sub>-макроглобулин (α<sub>2</sub>M). Асцитическая жидкость (АЖ) появляется при различных заболеваниях яичников и представляет ценность для изучения. Калликреин, прекалликреин (ПК), плазмин, плазминоген (ПГ) и α<sub>2</sub>M в АЖ ранее не исследовались.

**Задачи исследования.** Изучение протеиназоингибиторного равновесия в АЖ больных цистаденокарциномой яичников и туберкулезом придатков (ТП) для определения его роли в развитии заболеваний и точек приложения медикаментозной терапии.

**Материалы и методы.** Исследованы калликреин, ПК, плазмин, ПГ и  $\alpha_2$ М в АЖ при цистаденокарциноме 1 яичника ( $n = 29$ , T3–4N0M0), результаты сравнивали с АЖ больных ТП до лечения ( $n = 17$ ). Возраст пациенток составил  $56,5 \pm 2,6$  года (менопауза). Уровни калликреина, ПК, плазмин, ПГ и  $\alpha_2$ М определяли до лечения на двулучевом спектрофотометре U-2900 UV Solutions (США), результат пересчитывали на 1 мг белка по методу Лоури. Содержание белка в АЖ было сравнимо с плазмой крови, поэтому за норму принимали данные плазмы крови здоровых доноров. Анализ результатов выполняли в программе Statistica 10.0.

**Результаты.** Считается, что выпот происходит в основном из поврежденных воспалением сосудов. Высокое содержание белка в АЖ при цистаденокарциноме и ТП позволило считать ее экссудатом. Соотношение ПК/калликреин, отражающее скорость образования калликреина в АЖ, при ТП и цистаденокарциноме было снижено в 4,6 и 6,7 раза относительно плазмы крови. При цистаденокарциноме соотношение ПГ/плазмин в АЖ было снижено в 3,8 раза, при ТП – соответствовало норме при увеличении уровней ПГ и плазмينا. Соотношение калликреин/ $\alpha_2$ М при ТП и цистаденокарциноме было выше нормы в 4,6 и 2,7 раза соответственно. Соотношение плазмин/ $\alpha_2$ М при ТП и цистаденокарциноме было выше нормы в 6,5 и 4,5 раза соответственно.

**Выводы.** Активность калликреина и плазмина в АЖ при цистаденокарциноме и ТП выше, чем в плазме крови здоровых доноров. Активность  $\alpha_2$ М в АЖ при цистаденокарциноме и ТП недостаточна для контроля калликреина и плазмина.

## Пол больных влияет на уровень факторов роста в тканях злокачественной опухоли прямой и сигмовидной кишки

Е.А. Никипелова, О.И. Кит, Е.М. Франциянц, А.А. Маслов, В.А. Бандовкина, Л.С. Козлова, М.Б. Козлова  
ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону

**Введение.** Рак ободочной и прямой кишки чаще развивается у мужчин, чем у женщин. Факторы роста и неоангиогенеза поддерживают гомеостаз эндотелиального барьера, формируют новую сосудистую сеть, снабжающую опухоль, и регулируются половыми гормонами.

**Задачи исследования.** Изучение уровня некоторых факторов роста и неоангиогенеза в злокачественных

опухолях прямой и сигмовидной кишки у больных обоего пола.

**Материалы и методы.** Методом ИФА были исследованы: фактор роста эндотелия сосудов А (VEGF-A), инсулиноподобные факторы (IFR-1 и IFR-2) и трансформирующий ростовой фактор  $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) в опухолевых тканях 73 пациентов (47 мужчин и 26 женщин; первичная аденокарцинома, st. III, G2; T1–3N0M0). Возраст пациентов составил 38–74 лет. Проведено сравнение с тканью условно интактной кишки, полученной из области линии резекции от тех же больных. Анализ данных выполняли в сертифицированной программе Statistica 10.0.

**Результаты.** Неоангиогенез в разных отделах толстой кишки имеет общие и отличительные черты, связанные с экспрессией факторов роста, а также гендерные различия. К общим механизмам относится регулируемая IFR-1 и IFR-2 активация VEGF-A в ткани злокачественной опухоли как прямой, так и сигмовидной кишки. Отличием является тот факт, что регуляторная роль TGF- $\beta_1$  в отношении VEGF-A присутствовала только в ткани опухоли прямой кишки у женщин ( $r = 0,99$ ;  $p < 0,05$ ). У женщин уровень VEGF-A в опухоли прямой и сигмовидной кишки был достоверно выше в 2,3 раза. Кроме того, активация VEGF-A у женщин в опухолях как сигмовидной, так и прямой кишки значительно меньше зависела от IFR-II, так как его уровень был в среднем в 1,5 раза ниже, чем у мужчин.

**Выводы.** Выработка опухолями колоректального рака таких факторов неоангиогенеза, как VEGF-A, IFR-2 и TGF- $\beta_1$ , имеет половую зависимость, что, возможно, является одной из причин частоты заболеваемости данной патологией у мужчин и женщин.

## Экспрессия Е-кадгерина в раке предстательной железы в зависимости от степени инвазии опухолевых комплексов

М.В. Пучинская

УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Республика Беларусь

**Введение.** При РПЖ часто даже в пределах 1 опухолевого узла имеются участки, в различной степени «проникающие» в строму. ЭМП является важным механизмом, повышающим способность раковых клеток к инвазии в окружающие ткани и метастазированию. Снижение экспрессии Е-кадгерина – ключевой признак ЭМП.

**Задачи исследования.** Оценить экспрессию Е-кадгерина в РПЖ в связи со степенью инвазии опухолевых комплексов.

**Материалы и методы.** Исследованы 357 полей зрения (п. з.) в 25 образцах РПЖ. Экспрессию

Е-кадгерина выявляли иммуногистохимическим методом с помощью первичных моноклональных мышечных антител (BioGenex; разведение 1:150) и системы визуализации EnVision (DAKO). Микрофотографии, сделанные при увеличении 200, анализировали в программе AperioImageScore v. 11.2.0.780. Экспрессия маркера описывалась средней интенсивностью положительных пикселей (СИПП, Iavg) (значение обратно степени экспрессии). Степень инвазии оценивали визуально полуколичественно.

**Результаты.** Неожиданно экспрессия Е-кадгерина оказалась выше в крае опухолевых узлов, чем в их центре ( $p = 0,0024$ ), преимущественно за счет участков опухоли, близких к капсуле железы ( $p = 0,018$  в участках, близких к капсуле, и  $p = 0,076$  в участках, далеких от капсулы). Отсутствие инвазии отмечено в 207 п. з. (СИПП 143,49 [133,19; 152,10]), слабая — в 15 п. з. (СИПП 132,42 [124,15; 148,38]), умеренная — в 18 п. з. (СИПП 143,54 [136,79; 146,75]) и выраженная — в 11 п. з. (СИПП 124,67 [118,13; 142,69]). В других п. з. был представлен нераковый эпителий. При сравнении СИПП в группах с разной инвазией выявлены достоверные различия (тест Крускала–Уоллиса;  $p = 0,036$ ). При попарных сравнениях (тест Манна–Уитни) показано достоверное различие п. з. с выраженной инвазией от п. з. с ее отсутствием ( $p = 0,0057$ ) и умеренной инвазией ( $p = 0,006$ ); тенденция к различию групп со слабой и умеренной инвазией ( $p = 0,096$ ). При учете только 214 п. з., далеких от капсулы железы, различия в экспрессии Е-кадгерина отсутствовали ( $p = 0,39$ ), однако в 33 п. з., близких к капсуле, приближались к статистически достоверным ( $p = 0,055$ ).

**Выводы.** В данной работе получены неожиданные результаты по повышению экспрессии Е-кадгерина в участках выраженной инвазии опухоли. Причины и значение этого феномена требуют дальнейшего изучения.

## Регуляция ангиогенеза в новообразованиях головного мозга

Э.Е. Росторгуев, Е.М. Франциянц, Ю.А. Погорелова,  
Л.С. Козлова, Л.Д. Ткаля

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

**Введение.** Опухолевый рост относится к заболеваниям с патологическим ангиогенезом. Проблема лечения первичных и метастатических новообразований головного мозга остается нерешенной. Факторы семейства VEGF, помимо своих основных ангиогенных функций, выполняют важные медиаторные функции в иммунной системе. В опухолях головного мозга роль семейства VEGF изучена недостаточно.

**Задачи исследования.** Изучить уровень факторов ангио- и лимфангиогенеза в ткани глиобластом, мета-

стазов рака в головной мозг, менингиом и соответствующей перитуморальной зоны.

**Материалы и методы.** Изучены ткани опухоли и перитуморальной зоны 22 пациентов с глиобластомами, 14 больных с метастазами РМЖ в мозг и 12 пациентов с менингиомами. Средний возраст составил  $39,2 \pm 4,8$  года. Образцы тканей получены при оперативном лечении. Методом ИФА определяли уровни VEGF-A, VEGF-R1, VEGF-C и VEGF-R3. Анализ данных выполняли в сертифицированной программе Statistica 10.0. Достоверность различий определяли по t-критерию Стьюдента.

**Результаты.** Уровень VEGF-A в ткани глиобластом и метастазов был выше, чем в менингиомах, в 74,7 и 94,5 раза соответственно, уровень VEGF-R1 — в 2,7 и 3,9 раза; коэффициент равновесия VEGF-A/VEGF-R1 был выше в 28,1 и 24,1 раза соответственно. Уровни VEGF-C и VEGF-R3 были увеличены относительно менингиом только в ткани глиобластом (в среднем в 1,7 раза). Коэффициент VEGF-C/VEGF-R3 одинаков во всех исследуемых опухолях.

В перитуморальной ткани глиобластом и метастазов уровень VEGF-A оказался выше, чем в перитуморальной ткани менингиом, в 78,2 и 110,7 раза соответственно, а уровень VEGF-R1 увеличен в 5,5 раза только в перитуморальной ткани глиобластом. Коэффициент VEGF-A/VEGF-R1 был выше в 14,5 и 128,5 раза соответственно. Уровень VEGF-C был повышен относительно менингиом в перитуморальной зоне глиобластом и метастазов в 6,5 и 1,6 раза соответственно. Содержание VEGF-R3 во всех перитуморальных образцах не имело достоверных различий, но коэффициент VEGF-C/VEGF-R3 был выше в перитуморальной зоне глиобластом в 9 раз, при метастазах — в 2 раза.

**Выводы.** Относительно ткани доброкачественной менингиомы в ткани глиобластом активирован ангио- и лимфангиогенез; в ткани метастазов — ангиогенез. В перитуморальной ткани глиобластом, по сравнению с метастазами, активнее протекает лимфангиогенез, а в перитуморальной ткани метастазов — ангиогенез.

## Особенности экспрессии виментина и его корреляции с разными типами опухолевых сосудов, клиничко-морфологическими характеристиками и биологическими подтипами рака молочной железы

М.А. Сеньчукова<sup>1,2</sup>, Н.В. Никитенко<sup>3</sup>,  
Е.И. Шурыгина<sup>1,2</sup>, О.Н. Томчук<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России;

<sup>2</sup>ГБУЗ «Оренбургский областной клинический онкологический диспансер»;

<sup>3</sup>ГБУЗ «Онкологический диспансер № 2» Минздрава Краснодарского края, Сочи

**Введение.** Ангиогенез и ЭМП являются ключевыми событиями в опухолевой прогрессии. Однако в настоящее время недостаточно информации о типах опухолевых сосудов, связанных с процессами ЭМП.

С учетом того, что виментин — широко известный фенотипический маркер ЭМП, **задачей исследования** было изучение особенностей экспрессии виментина и их корреляций с различными типами опухолевых сосудов, клиническими характеристиками и биологическими подтипами РМЖ.

**Материалы и методы.** Изучены образцы опухолей, полученные от 46 пациентов с стадиями T1–T2 инвазивного РМЖ неспецифического типа. Гистопрепараты окрашивали гематоксилином и эозином и иммуногистохимически, с использованием антител к CD34 и виментину.

**Результаты.** Экспрессия виментина выявлена в следующих типах клеток: в нормальных фибробластах и миоэпителиальных клетках; эндотелиальных клетках; атипичных стромальных клетках (клетки с нечеткими контурами, разных размеров и формы с крупными гетерохромными ядрами, интенсивно накапливающие маркер и располагающиеся преимущественно вдоль инвазивного края опухоли). Иногда экспрессия наблюдалась в клетках интрадуктального и инвазивного компонента опухоли.

В плане прогноза наибольший интерес представляли плотность атипичных стромальных клеток, экспрессирующих виментин, и наличие экспрессии в клетках инвазивного компонента опухоли. Высокая плотность атипичных стромальных клеток была связана с множественными атипичными дилатированными капиллярами ( $p = 0,02$ ), множественными «полостными структурами» с частичной эндотелиальной выстилкой ( $p = 0,01$ ) и наличием рецидива РМЖ ( $p = 0,02$ ). Экспрессия виментина в клетках инвазивного компонента опухоли была связана с множественными атипичными дилатированными капиллярами ( $p = 0,02$ ) и наличием рецидива заболевания ( $p = 0,11$ ). Не установлено

корреляций экспрессии виментина с другими типами опухолевых сосудов, клиническими характеристиками и биологическими подтипами РМЖ.

**Выводы.** Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о связи экспрессии виментина лишь с определенными типами опухолевых сосудов. Необходимы дальнейшие исследования для уточнения прогностической роли ЭМП при РМЖ.

## Возможности четырехцветной конфокальной микроскопии для оценки активности инфламмасом в опухоли

Л.А. Таширева, О.Е. Савельева

НИИ онкологии ФГБНУ «Томский НИМЦ РАН», Томск

**Введение.** Активация инфламмасом способствует росту и прогрессии опухоли. Инфламмасомы представляют собой белковые комплексы, имеющие в своем составе цитоплазматический патогенраспознающий рецептор (NLR или PYHIN), адапторный протеин ASC и каспазу 1. В связи с этим метод оценки активности инфламмасом в ткани опухоли должен позволять визуализировать одновременно 2 их маркера (ASC и каспазу 1), а также маркеры, идентифицирующие клетку, содержащую активную инфламмасому (в случаях карциномы — цитокератин и ядерный краситель).

**Задачи исследования.** Описать опыт применения четырехцветной конфокальной микроскопии для оценки статуса активации инфламмасом на основе изучения коэкспрессии и колокализации ASC и каспазы 1 в опухолевых клетках.

**Материалы и методы.** Исследование проведено на формалинфиксированной ткани немелкоклеточного рака легкого, полученной при оперативном лечении пациентов, с использованием первичных антител mouse anti-ASC (1:100, clone 2A7, Abcam, США), rabbit anti-Caspase-1 (1:50, polyclonal, Abcam, США) и goat anti-Cytokeratin-7 (1:50, clone N-20, SantaCruze, США) и вторичных антител donkey anti-mouse-AlexaFluor488, donkey anti-rabbit-Cy3 и donkey anti-goat-AlexaFluor647 (Abcam, США), а также ядерного красителя DAPI. Окрашивание оценивали на конфокальном микроскопе LSM780NLO (Carl Zeiss, Германия).

**Результаты.** При исследовании маркеров инфламмасом в клетках немелкоклеточного рака легкого в 74 % случаев экспрессия ASC и каспазы 1 отсутствовала, в 8 % случаев была отмечена их цитоплазматическая коэкспрессия и колокализация, что является признаком активации инфламмасом. Кроме того, в 1 % случаев обнаружена коэкспрессия ASC и каспазы 1 без колокализации, в 10 % — экспрессия только ASC и в 7 % — экспрессия только прокаспазы 1, что может быть индикатором разных этапов активации инфламмасом.

**Выводы.** В отдельных клетках немелкоклеточного рака легкого отмечается коэкспрессия и пространственная колокализация ASC и каспазы 1, что можно считать признаком активации инфламасом. Четырехцветная конфокальная микроскопия является подходящим методом выявления подобных изменений в клетках.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ № МД-273.2017.7.*

## Локальный рак почки нивелирует гендерные различия калликреина и ингибиторов плазмы крови и мочи

Е.М. Франциянц, О.И. Кит, Л.С. Козлова, Д.А. Розенко, С.Н. Димитриади, Л.Я. Розенко

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

**Введение.** Калликреин (К), универсальные ингибиторы  $\alpha_2$ -макроглобулин ( $\alpha_2$ М) и  $\alpha_1$ -протеиназный ингибитор ( $\alpha_1$ ПИ) могут дать информацию о нарушениях системной и локальной эндогенной защиты при онкологическом процессе в почке.

**Задачи исследования.** Определение уровней К,  $\alpha_2$ М,  $\alpha_1$ ПИ в плазме крови и моче мужчин и женщин с локальным раком почки (ЛРП).

**Материалы и методы.** В плазме крови и моче 39 больных ЛРП (22 мужчины и 17 женщин) стадии T1–2N0M0 исследованы активность трипсиноподобных протеиназ (ТП), К, рго-К (ПК), карбоксипептидазы N (KPN),  $\alpha_2$ М и  $\alpha_1$ ПИ. Возраст пациентов составил 36–67 лет. Результаты сравнивали с нормальной плазмой крови ( $N_1$ ) и мочой ( $N_2$ ) 32 здоровых доноров. Применяли спектрофотометрию и метод ИФА. Статистический анализ данных выполняли в программе Statistica 10.0.

**Результаты.** В плазме крови доноров различались только активности К и  $\alpha_2$ М: у женщин выше, чем у мужчин в 3,8 и 1,2 раза соответственно ( $p < 0,01$ ).

В моче доноров активности К и  $\alpha_2$ М также были выше у женщин, чем у мужчин, – в 1,9 и 3,3 раза соответственно. Активности ТП, ПК, KPN и  $\alpha_1$ ПИ у доноров практически одинаковы как в плазме крови, так и в моче.

В плазме крови при ЛРП активности ТП и К у мужчин выше, чем у женщин в 2,6 и 1,9 раза соответственно. По сравнению с  $N_1$  у мужчин активность К была увеличена в 3,8 раза, у женщин – понижена в 1,9 раза. Уровни ТП у женщин соответствовали  $N_1$ , у мужчин – повышались в 2,0 раза. Активности KPN, ПК,  $\alpha_2$ М и  $\alpha_1$ ПИ относительно  $N_1$  изменялись однонаправленно, без достоверных гендерных различий: уровень ПК был снижен в плазме крови мужчин в 3,4 раза, у женщин – в 3,9 раза; активность KPN повышена у мужчин в 1,4 раза, у женщин – в 1,5 раза; уровень  $\alpha_2$ М уменьшался у мужчин в 2,1 раза, у женщин – в 2,6 раза;

уровень  $\alpha_1$ ПИ был снижен у мужчин в 2,6 раза, у женщин – в 2,9 раза. При сходстве изменений уровней К, KPN и ингибиторов К в плазме крови больных ЛРП их физиологическое равновесие было нарушено во всех случаях. В  $N_1$  у мужчин уровень К составлял 4,2 % от ТП, при ЛРП – 8,0 %, несмотря на повышение обоих показателей. В  $N_1$  женщин уровень К составлял 17,1 % от ТП, при ЛРП – 11,2 %.

В моче при ЛРП все компоненты калликреин-кининовой системы по сравнению с  $N_2$  однонаправленно ( $p < 0,01$ ), без достоверных гендерных различий.

**Выводы.** ЛРП вызывает истощение ПК и К в плазме крови, выведение ПК и К с мочой в результате длительной активации системы. Увеличение уровня KPN в плазме крови и моче при ЛРП у мужчин и женщин относительно  $N_1$  и  $N_2$  подтверждает участие карбоксипептидаз в образовании альдостерона.

## Факторы роста семейства VEGF в асцитической жидкости и сыворотке крови как регуляторы функций сосудистого эндотелия при опухолях яичников

Е.М. Франциянц, О.И. Кит, Т.И. Моисеенко, Л.С. Козлова, Ю.А. Погорелова

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

**Задачи исследования.** Изучение в сыворотке крови (СК) и асцитической жидкости (АЖ) больных раком яичников при I–IV стадиях заболевания уровней факторов роста эндотелия сосудов А и С (VEGF-A и VEGF-C) и рецептора VEGF-R1.

**Материалы и методы.** Сравнивали СК при серозной цистаденокарциноме (Ц,  $n = 78$ ) и цистаденоме (ЦА,  $n = 49$ ) с СК при миоме матки (ММ,  $n = 20$ ) у больных той же возрастной группы ( $51,5 \pm 2,6$  года). Гистологический контроль осуществляли во всех случаях. Изучена нативная АЖ больных Ц одного яичника ( $n = 28$ , T3–4N0M0) и больных ЦА яичников ( $n = 17$ ) без лечения. Уровни VEGF-A, VEGF-R1 и VEGF-C определяли методом ИФА.

**Результаты.** В СК больных уровни VEGF-A, sVEGF-R1 и VEGF-C были повышены относительно СК 29 здоровых доноров (N) в 1,8; 2,0 и 1,7 раза соответственно. При Ц стадии T1N0M0 уровень VEGF-A превышал таковой в N и ЦА в 2,9 и 1,6 раза соответственно, при стадии T2N0M0 – в 3,1 и 1,7 раза, при T3NxM0 – в 5,5 и 3,0 раза, при T4Nx – 1M0 – в 5,8 и 3,1 раза. Уровень sVEGF-R1 при всех стадиях Ц был одинаков: в среднем в 2 раза выше N и не имел отличий от такового при ЦА и ММ. Установлена достоверная разница по уровню VEGF-A между Ц, а также ЦА

и ММ. В СК всех больных уровень sVEGF-R1 был достоверно выше N ( $p < 0,01$  во всех случаях).

Уровень VEGF-C при ЦА и ММ был выше N в среднем в 1,7 раза. При Ц он достоверно отличался от ЦА, ММ и N. Уровень VEGF-C в СК больных со стадией T1N0M0 был выше N и ЦА в 2,0 и 1,2 раза соответственно, со стадией T2N0M0 – в 2,6 и 1,6 раза, T3NxM0 – в 2,5 и 1,5 раза, T4Nx – 1M0 – в 2,5 и 1,5 раза. Достоверные различия VEGF-C в 1,3 раза выявлены только между стадиями T1N0M0 и T2N0M0 ( $p < 0,05$  во всех случаях).

В АЖ уровень VEGF-A при Ц был выше, чем в СК, в 9,8 раза, sVEGF-R1 – в 3,9 раза; VEGF-C – в 1,6 раза. Уровни VEGF-A, sVEGF-R1 и VEGF-A/sVEGF-R1 в АЖ при ММ и ЦА не отличались от аналогичных показателей в СК, а содержание VEGF-C было ниже, чем в СК, в среднем в 1,7 раза ( $p < 0,05$  во всех случаях). Уровни VEGF-A и sVEGF-R1 в АЖ при Ц были выше, чем в СК, в 3,6 и 4,4 раза соответственно, VEGF-A/sVEGF-R1 снижен в 1,2 раза. Содержание VEGF-C в АЖ при ЦА было ниже, чем в СК, в 1,6 раза ( $p < 0,05$  во всех случаях).

**Выводы.** VEGF в СК больных коррелирует со стадиями Ц, разделяя ранние и распространенные формы. Уровень VEGF-A выше, чем уровень VEGF-C в СК и АЖ при всех опухолях. Семейство VEGF регулирует функции эндотелия кровеносной и лимфатической сосудистой сети, влияющие на онкогенез и возникновение асцита.

## Получение и характеристика коллекции мутантных клеточных культур рака молочной железы

Ю.А. Хоченкова<sup>1</sup>, Е.Р. Полосухина<sup>1</sup>,  
А.Р. Венина<sup>2</sup>, Д.А. Хоченков<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова»  
Минздрава России, Москва

На сегодняшний день РМЖ является самым распространенным онкологическим заболеванием у женщин. Как минимум 10 % случаев РМЖ связано с наследованием определенного генетического дефекта. Таким образом, установление коллекции стабильно растущих клеточных культур, несущих мутации в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *NBS1* и *BLM*, может быть неопределимым при создании различных экспериментальных моделей и разработке оптимального подхода к лечению данной категории новообразований.

Скринингу были подвергнуты 1083 пациентки, в результате чего был выявлен 81 случай носительства мутаций: 29 – *BRCA1* 5382insC, 3 – *BRCA1* 4153delA, 1 – *BRCA1* 185delAG, 2 – *BRCA2* 6174delT, 1 – *BRCA2* c.8405-8406insC, 10 – *CHEK2* 1100delC, 14 – *CHEK2*

ivs2+1G>A, 10 – *CHEK2* 5395del, 6 – *NBS1* 657del5, 2 – *NBS1* R215W, 3 – *BLM* Q548X. В 60 случаях удалось получить операционный материал, который использовали для создания первичных культур. Большинство (43 (72 %) из 60) клеточных линий со временем утратили пролиферативную активность.

Нами были получены и охарактеризованы 2 стабильно растущие первичные клеточные культуры карциномы молочной железы, несущие мутацию *BRCA1*-5382insC T58 (41 пассаж) и T59 (44 пассаж). Была проведена морфологическая и генетическая характеристика, анализ STR-маркеров в образцах клеточных культур, описана гистопатологическая дифференцировка первичных опухолей и их характеристика роста *in vitro*. С помощью методов иммунофлуоресценции выполнена оценка уровня экспрессии маркеров ER- $\alpha$ , PR, C-erbB2, CD44/24, E- и VE-кадгерин, CD117, Cyt 5/6 и Cyt 7. Обе клеточные культуры характеризовались как трижды негативный РМЖ.

В дальнейшем полученные культуры будут проанализированы на предмет морфологических и экспрессионных особенностей, а также ответа на различные схемы лекарственной терапии, что позволит создать предпосылки для улучшения результатов лечения РМЖ у пациенток с наследственными генетическими дефектами.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 17-15-01384).

## Маркеры стволовых опухолевых клеток и молекул адгезии на клетках меланомы человека

И.О. Чикилева, И.Ж. Шубина, Л.Т. Мамедова,  
Л.Ф. Морозова, М.В. Киселевский

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

Анализ экспрессии маркеров стволовых клеток и молекул адгезии на поверхности опухолевых клеток может пролить свет на их биологический потенциал и вероятные пути их инвазии, склонность к метастазированию.

Проведена оценка экспрессии поверхностных маркеров CD273, CD103, CD66a и CD44 на клетках меланомы человека линий MellS, MellBr, MelCher5k и рака яичника CroCel.

CD273 – низкоаффинный рецептор фактора роста нервов, представляет собой маркер стволовых опухолевых клеток меланомы и других типов злокачественно трансформированных клеток. Наивысшая (23 %) экспрессия белка обнаружена среди клеток линии MelCher5k, которая была получена из единственного опухолевого клона и отличается особенно высокой скоростью пролиферации. Линии MellS и MellBr несли рецептор на 15 и 5 % клеток соответственно. Линия

MelIbг отличается наименьшей скоростью роста среди трех. Интересно, что именно она несет данный рецептор на наименьшей доле клеток. Среди CroCel 13 % клеток были положительны по данному маркеру.

CD103 (интегрин  $\alpha E$ ) связывается главным образом с E-кадгерином на эпителиальных клетках, он важен для хоуминга лимфоцитов в эпителий и кишечник. На своей поверхности данный маркер несли 40–60 % клеток линий меланомы и 85 % клеток CroCel.

CD66a (carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1, CEACAM1) – молекула клеточной адгезии, родственная канцероэмбриональному антигену. Белку приписывают существенные функции в клеточной дифференциации, организации трехмерных структур тканей, ангиогенезе, апоптозе, подавлении опухолевого роста, метастазировании, в модуляции реакций врожденного и адаптивного иммунитета. Все клетки линий CroCel, MelCher5k и MelIbг были положительны по данному маркеру. Однако линия Mells экспресировала антиген только на 72 % клеток.

CD44 – рецептор гиалуроновой кислоты, отвечает за хоуминг клеток, миграцию и клеточную адгезию. Все исследованные линии были на 100 % положительны по данному маркеру.

По предварительным данным, вышеуказанные маркеры целесообразно включить в иммунологический портрет опухоли для оценки ее иммунобиологических свойств.

## Маркеры хемотаксиса и подавления иммунного ответа на клетках меланомы человека

И.О. Чикилева, И.Ж. Шубина, Л.Т. Мамедова,  
Л.Ф. Морозова, М.В. Киселевский

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

Опухолевые клетки в ходе прогрессирования заболевания обретают ряд белков, определяющих возможность метастазирования опухоли (например, CCR7)

или подавляющих реакцию иммунной системы (например, PD–L1).

Проведена оценка экспрессии поверхностных маркеров CCR7, CCR9, PD–L1 и внутриклеточного CTLA-4 на клетках меланомы человека линий Mells, MelIbг, MelCher5k; солидных опухолей – рака яичника SCOV3 и CroCel, рака толстого кишечника HCT116; эритромиелобластоидной линии K562; на клетках меланомы человека, полученных из операционного материала больного меланомой (МОМ). Исследованные линии содержали небольшую (0,7–1,1 %) субпопуляцию клеток, несущих хемокиновый рецептор хоуминга в лимфатические узлы CCR7 (K562–4 %). Хемокиновый рецептор CCR9, обеспечивающий хоуминг Т-клеток в стенки кишечника, ассоциированный с повышенным метастазированием и множественной устойчивостью опухолевых клеток к антибиотикам, обнаружен в незначительном количестве – на 0,1–0,2 % клеток линий Mells и MelCher5k, а также на 0,7 % клеток K562.

Экспрессия лиганда ингибиторного рецептора лимфоцитов PD-1 (PD–L1) оказалась выше (10,0 %) на клетках МОМ и отсутствовала или была крайне незначительной (0–1,7 %) на всех культивируемых линиях меланомы. Маркер PD–L1 был обнаружен на 6 % клеток HCT116 и отсутствовал на линиях рака яичника. Было показано, что ингибиторный рецептор лимфоцитов CTLA-4 обнаруживается также в ряде клеток, не относящихся к иммунной системе, и возрастает при их злокачественной трансформации (E. Contardi и соавт., 2005). На поверхности исследованных линий CTLA-4 отсутствовал, однако рецептор экспресировался внутри клеток всех линий меланомы (Mells – 14 %, MelIbг – 19 %, MelCher5k – 52 %), в 42 % клеток МОМ, в 73 % клеток HCT116, при этом отсутствовал в клетках рака яичника.

Таким образом, все исследованные опухолевые линии содержат субпопуляцию клеток с потенциалом к метастазированию (CCR7+). Экспрессия PD–L1 на культивируемых линиях оказалась очень незначительна. Опухолевые линии экспресировывают внутриклеточный CTLA-4, который, возможно, также участвует в подавлении иммунных реакций в отношении опухолей.

## СЕКЦИЯ IV

## СИГНАЛЬНЫЕ КАСКАДЫ В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ

## Доклады

**Вемурафениб-резистентные клетки меланомы проявляют свойства мезенхимальной стволовой клетки**

А.А. Вартанян<sup>1</sup>, О.С. Бутова<sup>1</sup>, Х.А. Вишнякова<sup>2</sup>,  
И.В. Самойленко<sup>1</sup>, В.А. Мисюрин<sup>1</sup>, Е.Е. Егоров<sup>2</sup>,  
М.А. Барышникова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии  
им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

**Введение.** За последние 50 лет эффективность лечения диссеминированной меланомы практически не изменилась. Надежды появились с обнаружением мутаций в BRAF-киназе и с появлением в клинической практике ингибиторов мутированной BRAF-киназы. Хотя селективные ингибиторы мутантной киназы увеличивают безрецидивную и общую выживаемость больных меланомой с BRAF-мутацией, у половины пациентов через 6–7 мес от начала лечения развивается резистентность к нему.

**Задачи исследования.** Получение клеточной культуры меланомы из опухолевого материала больных меланомой, резистентной к вемурафенибу, и исследование механизмов приобретенной резистентности.

**Материалы и методы.** В работе использованы 2D-культивирование клеток меланомы, проточная цитофлуориметрия, ПЦР с обратной транскрипцией, остеогенная и адипоцитная дифференцировка.

**Результаты.** Из опухолевого материала больных меланомой (pT3bN0M0 и TxN0M1c) с мутацией BRAF V600E, резистентной к вемурафенибу, выведены 2 клеточные линии меланомы — Mel Ki и Mel F1702. Клетки были гомогенными и имели фибробластоподобную форму. Статус меланомы был подтвержден экспрессией CD63. Исследование иммунофенотипического профиля клеток меланомы выявило, что более 90 % клеток обеих клеточных линий экспрессировали типичные для мезенхимальных стволовых клеток маркеры CD90, CD105 и CD44. Более того, FACS-анализ показал, что

резистентные к вемурафенибу клетки, так же как и мезенхимальные стволовые клетки, не экспрессировали HLA-DR или маркеры гемопоэтических и эндотелиальных клеток CD45, CD31 и CD34. Не наблюдалась также экспрессия раковотестикулярных генов, что явилось еще одним подтверждением плюрипотентности клеток Mel Ki и Mel F1702. Обе клеточные линии меланомы, резистентные к вемурафенибу, в условиях адипоцитной и остеогенной дифференцировки дифференцировались в адипоцито- и остеобластоподобные клетки.

**Выводы.** Получено экспериментальное подтверждение транзиции резистентных к вемурафенибу клеток меланомы Mel Ki и Mel F1702 в клетки, подобные мезенхимальным стволовым клеткам. Необходимы дальнейшие исследования функции (функций) приобретенных клетками меланомы характеристик мезенхимальных стволовых клеток, прежде чем можно будет предложить подходы к преодолению резистентности к вемурафенибу на основе их дифференцировки в клетки мезодермальной линии.

**Лизин-специфическая метилтрансфераза ENMT2/G9a как коактиватор p53**

Е. Васильева, Л. Лезина, А.В. Антонов, Н.А. Барлев  
ФГБУН «Институт цитологии» РАН,  
Санкт-Петербург

Одним из важнейших супрессоров опухолей в организме человека является p53. Он функционирует в основном как транскрипционный фактор, и его активность регулируется множеством посттрансляционных модификаций. Среди различных ковалентных модификаций, обнаруженных у p53, наименее изученным является лизин-специфическое метилирование. Ранее было показано, что метилтрансфераза ENMT2/G9a репрессирует транскрипционную активность p53 за счет его метилирования по остатку лизина K373 в карбоксильном конце белка.

В данном исследовании мы обнаружили, что метилтрансфераза hG9a человека, в отличие от своего гомолога у мышей (mG9a), наоборот, стимулирует транскрипционную активность p53. Экзогенный и эндогенный hG9a увеличивает p53-зависимую транскрипцию таких проапоптотических генов, как *Bax* и *Puma*, что приводит к усилению апоптоза и снижению пролиферации. Важно отметить, что подавление экспрессии hG9a с помощью малых шпилечных РНК также снижало уровень активации p53-зависимого гена *Puma*. На молекулярном уровне hG9a взаимодействует с гистоновой ацетилтрансферазой p300/CBP, которая сама по себе также взаимодействует с p53. Усиление взаимодействия между p53 и CBP приводит к увеличению ацетилирования гистонов в промоторе гена *Puma*. Данные иммунофлуоресцентной конфокальной микроскопии обнаружили внутриядерную колокализацию белков p53, G9a и CBP. Биоинформатический анализ данных по экспрессии p53 и гена *G9a* у пациентов с немелкоклеточным раком легкого выявил статистически значимую положительную корреляцию между экспрессией *G9a* и p53 и выживаемостью больных.

В совокупности наши исследования указывают на то, что нужно с осторожностью использовать ингибиторы G9a в сочетании с генотоксическими препаратами для лечения p53-положительных опухолей.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (проект 14-15-00816).*

## Роль изменений в ремоделирующем хроматин-комплексе PBAF в процессе дифференцировки клеток крови

Г.М. Вирясова<sup>1</sup>, Н.В. Сошникова<sup>2</sup>,  
Г.Ф. Судына<sup>1</sup>, С.Г. Георгиева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»;

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт биологии гена» РАН, Москва

Промиелоцитарная лейкемия является результатом транслокации между 15-й и 17-й хромосомами в процессе дифференцировки гемопоэтических стволовых клеток по миелоцитарному пути, который в норме заканчивается превращением клеток в полиморфно-ядерные лейкоциты — нейтрофилы. В ходе нормальной дифференцировки происходят изменения в экспрессии генов, которые приводят к значительной специализации клеток и изменению их морфологии. Важную роль в этом процессе играют большие мультибелковые комплексы, изменяющие структуру хроматина и контролирующие транскрипцию генов. Мутации различных субъединиц ремоделирующего хроматин-комплекса PBAF (SWI/SNF) являются вторичными сопутствующими мутациями при различных типах онкозаболеваний. Предполагается, что замена одних субъединиц

в составе комплекса PBAF на другие, гомологичные, но отличающиеся функционально, определяет паттерны экспрессирующихся генов в разных типах клеток при дифференцировке.

В данной работе мы изучили экспрессию субъединиц комплекса SWI/SNF и его влияние на экспрессию специфических миелоцитарных генов на модельной линии HL-60 и в нейтрофилах здоровых доноров.

Мы показали, что в ходе дифференцировки по миелоцитарному пути кроме морфологических изменений происходит усиление экспрессии специфических маркеров CD66 (a, b, d), CD14 и CD11, а также угнетение экспрессии гена циклина D1 и усиление экспрессии гена P21, что свидетельствует о выходе клеток из клеточного цикла. Экспрессия большинства генов субъединиц комплекса SWI/SNF и РНК-полимеразы II уменьшалась, что может быть объяснено снижением общей транскрипционной активности клеток. Однако, согласно данным хроматин-иммунопреципитации, комплекс PBAF активно привлекается на промоторы специфических миелоцитарных генов, активирующихся в процессе дифференцировки.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты № 16-34-00531 и 17-04-01491).*

## Онкогенные функции убиквитинлигазы PIRH2 в клетках рака легкого человека

А.А. Дакс<sup>1</sup>, О.А. Федорова<sup>1</sup>, О.Ю. Шувалов<sup>1</sup>,  
А.В. Петухов<sup>1,2</sup>, Н.А. Барлев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Белок Pirh2 — продукт гена *RCHY1* человека — является RING-доменсодержащей E3-лигазой, осуществляющей убиквитинирование онкосупрессора p53 и направляющей его на протеасомную деградацию. При этом p53 активирует экспрессию гена *RCHY1*, формируя замкнутую цепь обратной регуляции. Таким образом, являясь негативным регулятором p53, Pirh2 способствует канцерогенезу. Однако стоит отметить, что множество типов раковых опухолей характеризуется либо отсутствием p53, либо мутациями в нем, и роль белка Pirh2 в таких клетках изучена недостаточно.

Для более глубокого понимания роли Pirh2 в формировании опухолевого потенциала клеток мы использовали протеомный подход, в результате чего нами было идентифицировано более 100 новых интерактантов данной убиквитинлигазы. Нами показано, что PIRH2, по-видимому, играет ключевую роль в таких клеточных процессах, как регуляция клеточного цикла, ответ на генотоксический стресс и запуск программируемой клеточной гибели.

Мы также поставили перед собой задачу исследовать влияние белка Pirh2 на туморогенный потенциал клеток линии немелкоклеточного рака легкого человека H1299, в которой отсутствует p53. В результате мы обнаружили, что повышение экспрессии PIRH2 способствует увеличению скорости пролиферации и миграционного потенциала данных клеток, а также повышает их устойчивость к генотоксическому агенту доксорубину. При этом нокдаун Pirh2 с использованием малых шпилечных РНК вызывает обратный эффект. Мы также показали, что Pirh2 вызывает повышение экспрессии онкогена *C-MYC* как на уровне матричной РНК, так и на уровне белка, что может частично объяснить механизм Pirh2-индуцированного повышения туморогенного потенциала клеток.

Полученные нами данные свидетельствуют в пользу того, что в клетках немелкоклеточного рака легкого человека H1299 Pirh2 является онкогеном и может рассматриваться как потенциальная мишень для разработки терапии p53-негативных опухолей.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 17-75-10198) и РФФИ (грант № 16-34-60228 мол\_а\_дк).*

## Роль компонентов сигнального пути TGF-β1 в прогрессировании люминального рака молочной железы

Т.А. Дронова<sup>1,2</sup>, Н.Н. Бабышкина<sup>1,2</sup>, С.В. Паталяк<sup>1</sup>, М.В. Завьялова<sup>1,3</sup>, Е.М. Слонимская<sup>1,3</sup>, Н.В. Чердынцева<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Томский НИМЦ РАН»;

<sup>2</sup>Национальный исследовательский Томский государственный университет;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск

**Введение.** Активация мембранных тирозинкиназ и запуск рецептор-опосредованных внутриклеточных сигнальных путей могут иметь решающее значение в механизмах развития гормональной резистентности.

**Задачи исследования.** Оценить взаимосвязь основных компонентов сигнального пути TGF-β1 с эффективностью адьювантной терапии тамоксифеном у больных люминальным РМЖ подтипов А и В.

**Материалы и методы.** В исследование включено 122 больных люминальным РМЖ (Т1-3N0-3M0), получавших в адьювантном режиме тамоксифен в стандартной дозировке 20 мг/сут. При оценке отдаленных результатов лечения прогрессирование заболевания выявлено у 23 пациентов (тамоксифен-резистентная группа), благоприятный исход заболевания имели 99 пациенток (тамоксифен-чувствительная группа). Уровень экспрессии mRNA *TGF-βR1*, полиморфизм генов *TGF-βR1* (rs334354), *TGF-βR2* (rs2228048) и *AKT1*

(rs1130233) изучен с помощью ПЦР в режиме реального времени. Белковая экспрессия TGF-βR1 и AKT1 оценена ИГХ-методом.

**Результаты.** Выявлена высокая частота встречаемости дикого генотипа гена *TGF-βR2* (rs2228048) в группе больных люминальным РМЖ подтипа А, имеющих благоприятный исход заболевания ( $p = 0,04$ ). Показано, что с чувствительностью к гормонотерапии тамоксифеном у больных люминальным РМЖ подтипа В ассоциирован высокий уровень белковой экспрессии TGF-βR1 ( $p = 0,052$ ). Уровень экспрессии белка AKT1 был статистически значимо выше в тамоксифен-резистентной группе по сравнению с тамоксифен-чувствительной независимо от люминального подтипа опухоли ( $p = 0,000$  и  $p = 0,007$  соответственно).

**Выводы.** Уровни белковой экспрессии TGF-βR1, AKT1 и SNP гена *TGF-βR2* (rs2228048) могут являться потенциальными молекулярно-генетическими маркерами эффективности гормональной терапии тамоксифеном у больных люминальным РМЖ.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (Соглашение № 14-15-00350).*

## Функциональная и фенотипическая характеристика клеточных популяций с различной экспрессией маркера стволовых клеток CD133

Я.С. Ким<sup>1</sup>, Д.М. Поташникова<sup>2</sup>, А.Т. Копылов<sup>1</sup>, А.В. Творогова<sup>2</sup>, Л.К. Курбатов<sup>1</sup>, О.В. Тихонова<sup>1</sup>, А.М. Гисина<sup>1</sup>, И.А. Воробьев<sup>2</sup>, К.Н. Ярыгин<sup>1</sup>, А.Ю. Лупатов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича», Москва;

<sup>2</sup>Биологический факультет, ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова»

**Введение.** Наиболее агрессивной клеточной популяцией в опухолях человека является популяция раковых стволовых клеток, обладающая повышенной химио- и радиорезистентностью и участвующая в метастазировании. Широко используемым маркером для их выделения является молекула CD133. Однако механизмы, лежащие в основе ее экспрессии и функционирования, остаются малоизученными.

**Задачи исследования.** Определение функциональных и фенотипических особенностей популяций опухолевых клеток с различным уровнем экспрессии CD133, а также выявление потенциальных молекулярных регуляторов CD133.

**Материалы и методы.** Популяции опухолевых клеток с различной экспрессией CD133 (CD133<sup>+/high</sup> и CD133<sup>-/low</sup>) были изолированы из стабильных опухолевых линий с помощью цитофлуориметра-сортера FACSAria III. Пролиферативную и клоногенную активность оценивали методом спектрофотометрии

с использованием программного обеспечения OpenC-FU. Митотический индекс клеточных популяций определяли с помощью флуоресцентной микроскопии. Дифференциально экспрессирующиеся транскрипты и белки клеточных популяций исследовали с помощью полногеномного транскриптомного анализа на микрочипах Agilent, количественной ПЦР и протеомного профилирования методом тандемной масс-спектрометрии. Анализ *in silico* полученных данных для выявления потенциальных молекул-регуляторов CD133 проводился с помощью платформы geneXplain (genexplain.com).

### Результаты

1. Клетки, экспрессирующие CD133, выявлены в 4 из 18 проанализированных стабильных линий различных опухолей человека – HT-29, Сасо-2, HUN7, FTC-133. При этом объем популяции варьировал от 5,7 до 99,7 % в зависимости от клеточной линии.

2. В функциональных тестах клетки CD<sup>133+/high</sup> двух клеточных линий (HT-29 и Сасо-2) обладали большей пролиферативной и клоногенной активностью, а также образовывали колонии большего размера и с более высоким митотическим индексом по сравнению с клетками CD<sup>133-/low</sup>.

3. Для клеток CD<sup>133+/high</sup> и CD<sup>133-/low</sup> линий HT-29, Сасо-2 и HUN7 были выявлены группы дифференциально экспрессирующихся транскриптов и белков.

4. Выявленные группы проанализированы с использованием платформы geneXplain, в результате чего был составлен список потенциальных ключевых молекул-регуляторов CD133. С помощью ранговой системы среди них были отобраны представляющие наибольший интерес молекулы: NANOG, TFAP2A, RREB1 и PTK2.

**Выводы.** Показана прямая корреляция между уровнем экспрессии CD133 и пролиферативно-клоногенной активностью клеток различных опухолевых линий. Выявлены четыре потенциальных молекулярных регулятора CD133, требующие дальнейшего более детального изучения.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты № 15-59-31516 и 17-54-33009) с использованием оборудования ЦКП «Протеом человека», поддержанного Минобрнауки России (уникальный идентификатор проекта RFMEFI62117X0015).*

## Белки-интеракторы Hsp70 и их значение для проопухоловой функции шаперона

В.Ф. Лазарев, Е.Ю. Комарова,  
И.В. Гужова, Б.А. Маргулис

ФГБУН Институт цитологии РАН,  
Санкт-Петербург

Белок теплового шока Hsp70 является типичным «двуликим» фактором в клеточной физиологии: если в нормальной клетке увеличение его количества и усиление шаперонной активности повышает ее устойчивость к множеству патогенных факторов, т. е. носит терапевтический характер, то в раковых клетках функцию шаперона надо, напротив, подавлять. В клетке Hsp70 взаимодействует с рядом белков-интеракторов, активность которых модулирует, влияя таким образом на работу систем передачи сигналов, например, в процессе апоптоза. Противоапоптотная функция Hsp70 подтверждена большим числом данных, полученных на клеточных и животных моделях рака, и установлены принципиально важные интеракторы Hsp70 – белки p53 (мутантная форма), каспазы, APAF-1, AIF и некоторые белки-кошапероны. По нашим данным, в группу подобных белков попадает фермент глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, связывание которого шапероном приводит к повышению жизнеспособности опухолевых клеток в условиях окислительного стресса.

Существенно, что фармакологическая диссоциация связей Hsp70 с другими белками может приводить к изменению их функции в клетке; такие факты продемонстрированы для кошаперонов Bag и содержащих J-домен белков. Применение диссоциирующих факторов на животных моделях рака обуславливает снижение темпов роста опухоли и метастазирования. Поиск диссоциаторов шаперона можно проводить с помощью специальных тест-систем, основанных на анализе взаимодействия шаперона Hsp70 с денатурированными белками; конструкция подобных систем будет представлена в докладе. Выявленные в результате скрининга соединения, способные диссоциировать связь шаперона с его субстратами, могут использоваться для комбинированной противоопухоловой терапии.

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

## Шаперонные технологии в борьбе с онкологическими заболеваниями

А.Д. Никитина, Е.Ю. Комарова, М.А. Шевцов,  
Б.А. Маргулис, И.В. Гужова

ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

Молекулярные шапероны, многие из которых являются белками теплового шока (БТШ, Hsp), синтезируются и накапливаются в клетках в ответ на действие большого числа стрессовых, патологических и терапевтических факторов. Большинство БТШ, например БТШ27, БТШ70 и БТШ90, отвечают за правильность сборки надмолекулярных белковых структур и должны не допускать формирования агрегатов полипептидов. Защитная функция молекулярных шаперонов в раковых клетках хорошо изучена: они препятствуют действию известных противоопухолевых лекарств. Общий механизм функционирования шаперонов БТШ70 и БТШ90 заключается в захвате ими клеточных белков и удержании их в связанной форме, что приостанавливает реализацию молекулярных сигнальных путей апоптоза и других типов программируемой клеточной смерти.

В настоящее время обсуждаются два основных способа справиться с проопухолевой функцией шаперонов: подавить их синтез и/или ингибировать шаперонную активность. Разработано несколько ингибиторов транскрипционного фактора генов БТШ, общего регулятора реакции клеток на стресс. Несмотря на выраженный противоопухолевый эффект, общий и основной недостаток этих веществ — достаточно высокая токсичность.

Руководствуясь принципом сочетанного действия лекарств на различные клеточные мишени, мы разработали ингибиторы регулятора синтеза шаперонов и функции шаперона БТШ70, которые обладают малой токсичностью, но повышают чувствительность раковых клеток к уже известным противоопухолевым лекарствам. Механизм их действия различен, однако к настоящему времени с применением высокотехнологичных методов исследования удалось доказать, что ингибиторы БТШ70 связываются с отдельными частями его молекулы и подавляют шаперонную функцию белка.

В лечении опухолей, клетки которых обладают повышенной экспрессией БТШ70, возможен и другой подход. Основываясь на знании, что БТШ70, оказавшись во внеклеточном пространстве, может играть роль активатора иммунной системы, мы разработали технологию иммунотерапии рака на базе введения в опухоль шаперона БТШ70. Этот метод основан на способности внеклеточного БТШ70 стимулировать выход из раковых клеток собственного аналога, что вызывает активацию систем врожденного и приобретенного иммунитета. Эффективность технологии

доказана в работах на моделях меланомы мыши и глиома крысы, а также подтверждена в ограниченных научных исследованиях с участием пациентов с опухолями мозга.

## Роль PNF10 в регуляции клеточного цикла

А.И. Хамидуллина<sup>1,2</sup>, М.А. Ястребова<sup>1,2</sup>, Е.В. Татарский<sup>3</sup>,  
Н.В. Сошникова<sup>3</sup>, В.В. Татарский<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова»;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва;

<sup>3</sup>ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва

Ремоделирующий хроматин-комплекс SWI/SNF регулирует экспрессию генов путем изменения положения нуклеосом. В ряде опухолей человека встречаются мутации компонентов комплекса SWI/SNF, которые позволяют определить свойства опухоли, ее чувствительность к ХТ. PNF10 является субъединицей комплекса pBAF SWI/SNF, важного для процессов дифференциации, пролиферации клеток и программируемой клеточной гибели.

Цель — изучить роль PNF10 и его изоформ в регуляции клеточного цикла, а также рассмотреть влияние белков-регуляторов клеточного цикла — ингибиторов циклинозависимых киназ (p27, p21) и белков-участников пропролиферативных клеточных каскадов на экспрессию и локализацию PNF10 в клетке.

В клеточных линиях PNF10 экспрессируется во всех фазах клеточного цикла, однако его нет в покоящихся (G0) клетках. Экспрессия PNF10 растет вместе с уровнем cMyc. При увеличении плотности клеток происходит переключение экспрессии изоформ PNF10, что коррелирует с угнетением экспрессии циклина D1 и увеличением — p27. Ингибирование PNF10 приводит к изменениям уровня экспрессии циклинов E1, A2 и D1 и усилению экспрессии p21. При гиперэкспрессии p27 в клетках первичных фибробластов человека наблюдается увеличение синтеза всех изоформ PNF10. Нокаут β-катенина и cMyc в клетках линий HCT-116 и SW-620 приводит к подавлению экспрессии PNF10. В клетках HCT-116 с нокаутом PNF10 наблюдаются снижение скорости роста клеток и увеличение клеток в фазе G0, однако не меняется чувствительность к ингибиторам ERK, PI3K/AKT, STAT, Wnt и ДНК-повреждающих агентов.

Таким образом, PNF10 связан со многими белками-регуляторами клеточного цикла и онкогенами. Нокаут PNF10 отражается на скорости роста клеток, возможно, играя роль при вхождении в фазу G1 клеточного цикла. Изучение PNF10 целесообразно для определения его роли в качестве потенциальной мишени для противоопухолевой терапии и маркера канцерогенеза.

## Активация экспрессии скаффолд-белка IQGAP3 и его возможная роль в гепатоканцерогенезе

П.А. Хесина<sup>1,2</sup>, И.Ф. Кустова<sup>1</sup>, М.С. Чесноков<sup>1</sup>,  
Н.Л. Лазаревич<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Отдел иммунохимии НИИ канцерогенеза, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>Биологический факультет, ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова»

Гепатоцеллюлярная карцинома (ГК) – самая распространенная форма злокачественных опухолей печени; она обладает устойчивостью к ХТ и обычно выявляется на поздних стадиях. В ГК наблюдаются нарушения работы сигнальных путей, таких как MAPK и Wnt. Важную роль в передаче внутриклеточных сигналов играют скаффолд-белки, в том числе белки семейства IQGAP, которые взаимодействуют с компонентами нескольких сигнальных каскадов (MAPK, NF-κB, PI3K и Wnt). Показано, что IQGAP1 проявляет свойства протоонкогена, а IQGAP2 – опухолевого супрессора. Функциональные особенности IQGAP3 в опухолях изучены недостаточно, что делает исследование его роли в канцерогенезе важной и актуальной задачей.

Целями работы стали анализ изменения экспрессии IQGAP3 при гепатоканцерогенезе и исследование влияния подавления экспрессии этого гена на биологические свойства клеток дифференцированной гепатомы человека.

Активация экспрессии IQGAP3 была выявлена нами при анализе данных транскриптомного секвенирования. На выборке из 50 пар клинических образцов методом ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени показано, что экспрессия IQGAP3 в ткани ГК по сравнению с неопухоловой тканью печени повышалась в 100 % случаев в среднем в 28 раз. Гиперэкспрессия IQGAP3 наблюдалась в большем количестве случаев, чем активация транскрипции GPC3 – одного из наиболее перспективных маркеров, предложенных в последнее время для диагностики ГК. При анализе общедоступных баз транскриптомных данных обнаружено увеличение экспрессии IQGAP3 в ГК в 32,5 раза, ассоциированное с неблагоприятным прогнозом общей и безрецидивной выживаемости.

Подавление экспрессии IQGAP3 в культуре клеток Huh7 вызвало значительное ослабление злокачественного потенциала опухолевых клеток, выраженное в снижении пролиферативной, миграционной и колониеобразующей активности.

Таким образом, нами выявлено повышение экспрессии IQGAP3 в клинических образцах ГК человека, а также описано снижение злокачественного потенциала опухолевых клеток при подавлении экспрессии

IQGAP3. Полученные данные указывают на то, что скаффолд-белок IQGAP3 является не только перспективным маркером ГК, но и потенциальной мишенью для противоопухолевой терапии.

## Сдвиг баланса изоформ фактора роста эндотелия сосудов А в ткани гепатоцеллюлярной карциномы

М.С. Чесноков<sup>1</sup>, П.А. Хесина<sup>1,2</sup>, Д.А. Шавочкина<sup>1</sup>,  
И.Ф. Кустова<sup>1</sup>, Л.М. Дьяков<sup>1</sup>, О.В. Морозова<sup>1</sup>,  
Н.С. Мюге<sup>3</sup>, Н.Е. Кудашкин<sup>1</sup>, Е.А. Мороз<sup>3</sup>, Ю.И. Патютко<sup>1</sup>,  
Н.Л. Лазаревич<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова»;

<sup>3</sup>ФГБУН ИБР им. Н.К. Кольцова РАН, Москва

Гепатоцеллюлярная карцинома (ГК) – наиболее распространенная форма злокачественных опухолей печени, характеризуется высокой степенью васкуляризации. Ключевую роль в регуляции роста сосудов играет фактор роста эндотелия сосудов А (VEGFA), а компоненты VEGF-зависимых сигнальных путей являются мишенями препаратов, одобренных для терапии ГК (сорафениб, регорафениб). Ген VEGFA экспрессируется в виде комбинации из нескольких изоформ, отличающихся ангиогенез-стимулирующим потенциалом, однако особенности экспрессии отдельных изоформ в ГК практически не исследованы.

В данной работе изучен полный спектр экспрессии изоформ VEGFA и проведена количественная оценка изменений экспрессии основных изоформ в экспериментальной панели из 50 пар образцов ткани ГК и неопухоловой ткани печени, полученной от тех же пациентов. Для оценки клинической значимости обнаруженных изменений проанализированы их ассоциации с клинико-патологическими характеристиками опухолей.

Преобладающими изоформами VEGFA в ткани печени являются VEGFA-189, VEGFA-165 и VEGFA-121. В ткани ГК часто подавлена экспрессия изоформы VEGFA-189 ( $p < 0,001$ ), наименее активной в плане индукции ангиогенеза, в то время как однонаправленных изменений экспрессии более активных изоформ VEGFA-165 и VEGFA-121 не выявлено. В большинстве случаев наблюдается снижение доли VEGFA-189 в общем пуле матричных РНК VEGFA и соответствующее ему повышение доли VEGFA-165 или VEGFA-121. Изменения долей VEGFA-189 (снижение) и VEGFA-121 (повышение), в отличие от изменений уровней их экспрессии, коррелируют с более поздними стадиями развития ГК, оцененными по системам TNM и BCLC ( $p < 0,05$ ), снижение доли VEGFA-189 также

ассоциировано с низким уровнем дифференцировки опухолевой ткани.

Мы предполагаем, что сдвиг баланса изоформ VEGFA в ткани ГК является значимым фактором, определяющим результирующие эффекты VEGFA-зависимой клеточной сигнализации и чувствительность опухоли к антиангиогенным препаратам, а его оценка может быть использована для прогноза течения заболевания и оптимизации лечения.

## Significance of FLT3 mutation for clinical evaluation of VEGF in serum of AML patients

V. Jurisic<sup>1</sup>, N. Čolovic<sup>2</sup>, S. Pavlović<sup>3</sup>, M. Čolović<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Medical Science, University of Kragujevac, Serbia;

<sup>2</sup> School of Medicine, Institute of Hematology, University of Belgrade, Serbia;

<sup>3</sup> Institute of Molecular Genetics and Genetic Engineering, University of Belgrade, Serbia

Vascular endothelial growth factor (VEGF) can induce growth of pre-existing (angiogenesis) or *de novo* vessels (vasculogenesis), and is therefore key for embryonic development and vessel repair. VEGF is also hijacked by solid tumors to support their neoplastic growth. Human leukemia cells secrete also VEGF which can act in a pa-

racrine manner within the bone marrow microenvironment to promote leukemia cell proliferation. In addition, the FLT3 receptor tyrosine kinase plays an essential role in regulating normal hematopoiesis, but its constitutive activation via mutation in acute myeloid leukemia (AML) patients and mostly is associated with poor outcome.

In the present article, VEGF and FLT3 mutations were analyzed simultaneously in 50 patients with AML and we tried to examine their association. VEGF was estimated using ELISA system, while molecular changes involved investigation of *FLT3-ITD mutation* by classical PCR technique. The new recommended “Standardized Reporting for Correlation of Cytogenetic & molecular genetic Data with Clinical Data” in AML patients was applied here. VEGF is analyzed in respect to FAB classification, classical cytogenetics, presence bone marrow blast cells, peripheral blast count, LDH values, and other clinical parameters as well. Using our new cytogenetic classification we divided all AML patients as: favorable, intermediate-I, intermediate-II and adverse prognosis.

Results shows that VEGF analyses in terms of our recommended classification (mean values for each respective group was as: 48.75; 57; 104 and 101 pg/ml) had much more significant difference (Mann – Whitney U-test,  $p < 0.01$ ) in comparison to classical cytogenetics and other investigated parameters. Our data indicated that molecular classification based on gene mutation simultaneous with measured VEGF can be very useful in disease prediction for AML patients.

## Постеры

### Экспрессия микроРНК-21, -181a, -186, -214, -301a, -1908, регулирующих PTEN, в эндометриальных опухолях

Н.С. Гелетина<sup>1</sup>, В.С. Кобелев<sup>1,2</sup>, Е.В. Бабаянц<sup>3</sup>, Л. Фэн<sup>4,5</sup>, Л.Ф. Гуляева<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики», Новосибирск;

<sup>2</sup>ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск;

<sup>3</sup>ГБУЗ НСО «Новосибирский областной клинический онкологический диспансер»

<sup>4</sup>Совместный Китайско-российский институт Новосибирского государственного университета (Новосибирск, Россия) и Хэйлуницзянского университета (Харбин, Китай);

<sup>5</sup>ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»

Рак эндометрия — актуальная проблема для всех экономически развитых стран, что обусловлено высокой распространенностью в популяции факторов риска развития гиперпластических процессов эндометрия. В патогенезе рака эндометрия одним из важнейших является сигнальный путь PI3K/Akt/mTOR, избыточная активация которого обуславливает резистентность клеток к апоптозу. К избыточной активации может приводить инактивация гена *PTEN* — негативного регулятора сигнального пути PI3K/Akt/mTOR. Нарушение экспрессии *PTEN* может происходить как на транскрипционном, так и на посттранскрипционном уровне с участием микроРНК — малых некодирующих молекул РНК. Таким образом, поиск микроРНК, ассоциированных со снижением экспрессии гена *PTEN*, является важным этапом в изучении механизмов канцерогенеза эндометрия.

В данной работе с помощью биоинформатического анализа и анализа данных научной литературы мы выявили микроРНК-21, -181a, -186, -214, -301a, -1908, потенциальным геном-мишенью которых может быть *PTEN*. Для подтверждения участия данных микроРНК в регуляции *PTEN* методом ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени мы оценили относительные уровни экспрессии исследуемых микроРНК и гена *PTEN* в образцах эндометрия при гиперплазии и аденокарциноме. Уровень белкового продукта гена оценивали иммуногистохимическим методом. Материалом исследования являются образцы биопсии эндометрия, полученные у пациенток Новосибирского областного онкологического диспансера с диагнозами «простая гиперплазия эндометрия» ( $n = 20$ ),

«атипическая гиперплазия эндометрия» ( $n = 16$ ), «аденокарцинома эндометрия I стадии» ( $n = 26$ ). В качестве контроля использовался нормальный, внешне неизмененный эндометрий, максимально удаленный от опухоли ( $n = 40$ ).

Выявлена обратная корреляция между уровнем экспрессии *PTEN* и уровнем микроРНК-214 в образцах аденокарциномы эндометрия I стадии. В образцах простой гиперплазии уменьшение экспрессии *PTEN* сопровождалось увеличением экспрессии микроРНК-21, -186, -214. Таким образом, можно предположить, что снижение экспрессии гена *PTEN* при канцерогенезе эндометрия может быть связано с увеличением уровня микроРНК-21, -186, -214.

### Исследование экспрессии рецепторов семейства фактора некроза опухоли в макрофагоподобных клетках острого миелоидного лейкоза

Я.В. Евстратова<sup>1,2</sup>, М.И. Кобякова<sup>1,2</sup>, Р.С. Фадеев<sup>1,2</sup>, В.С. Акатов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушино;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Пушкинский государственный естественно-научный институт»

**Введение.** Ранее в нашей лаборатории показано существование клеток ОМЛ, способных к адгезии к внеклеточному матриксу. Данные клетки были получены в результате селекции стандартной клеточной линии ОМЛ ТНР-1. Полученная клеточная линия (ТНР-1ad) является коммитированной в моноцитарно-макрофагальном направлении и обладает повышенной лекарственной устойчивостью к индукторам апоптоза на фоне сохранения пролиферативной активности.

Принято считать, что резистентность клеток ОМЛ к индукторам внешнего пути апоптоза связана с изменением соотношения проапоптотических и антиапоптотических рецепторов семейства фактора некроза опухоли (ФНО), таких как FasR, FTRAIL-R1 (DR4), TRAIL-R2 (DR5), TRAIL-R3 (DcR1), TRAIL-R4 (DcR2), TNFR-1 и TNFR-2.

**Задачи исследования.** Изучение экспрессии представленных рецепторов семейства ФНО при формировании лекарственной устойчивости клеток ОМЛ, способных к адгезии к внеклеточному матриксу.

**Материалы и методы.** Анализ экспрессии рецепторов семейства ФНО проводился в сравнении с клетками

ТНР-1, обработанными форболовым эфиром – стандартным индуктором макрофагальной дифференцировки (ТНР-1 РМА), которые являются полностью резистентными к действию апоптотических индукторов. В качестве отрицательного контроля использовали линию ТНР-1 дикого типа (ТНР-1wt), не обладающую устойчивостью к индукторам апоптоза.

Анализ экспрессии рецепторов семейства ФНО на поверхности клеток проводили при помощи проточной цитометрии с использованием панели антител к TNFR-1 (Thermo Scientific, США), TNFR-2 (Invitrogen, США), FasR (BD Bioscience, США), TRAIL-R1 (BD Bioscience, США), TRAIL-R2 (BioLegend, США), TRAIL-R3 (BD Bioscience, США), TRAIL-R4 (Molecular Probes, США).

**Результаты.** Анализ экспрессии рецепторов семейства ФНО показал, что на поверхности клеток ТНР-1ad представлены только рецепторы TNFR-2 (CD120b), FasR (CD95) и TRAIL-R2 (CD262), и доля клеток, экспрессирующих данные рецепторы, составила  $79,0 \pm 0,9$ ;  $14,0 \pm 0,4$  и  $51,0 \pm 14,0$  % соответственно. На поверхности клеток ТНР-1wt наблюдалась экспрессия тех же рецепторов семейства ФНО, что и на клетках ТНР-1ad, а также рецептора TNFR-1. Доля популяции, экспрессировавшей TNFR-1, составила  $24,0 \pm 13,5$  %; TNFR-2 –  $48,0 \pm 14,3$  %; TRAIL-R2 –  $71,0 \pm 14,1$  %. Однако у клеток ТНР-1 РМА экспрессия представленных рецепторов семейства ФНО обнаружена не была.

**Выводы.** Полученные данные соотносятся с данными о результатах токсического действия рекомбинантного белка izTRAIL на исследуемые клеточные варианты, в которых клетки ТНР-1 РМА были полностью нечувствительны к izTRAIL, а около половины всех клеток ТНР-1ad были нечувствительны к TRAIL-индуцированному апоптозу. Следовательно, результаты настоящего исследования указывают на то, что в формировании лекарственной устойчивости к TRAIL-индуцированному апоптозу у клеток ОМЛ ТНР-1, способных к адгезии к внеклеточному матриксу, может принимать участие изменение экспрессии TRAIL-R2.

## Лекарственная устойчивость клеток острого миелоидного лейкоза в многоклеточных агрегатах. Роль белков множественной лекарственной устойчивости

М.И. Кобякова, Я.В. Евстратова,  
Р.С. Фадеев, В.С. Акатов

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной  
биофизики РАН, Пущино,  
ФГБОУ ВО «Пушинский государственный  
естественно-научный институт»

**Введение.** Ранее в наших работах было показано, что в многоклеточных структурах (агрегатах) формируется устойчивость клеток ОМЛ к действию химиотерапевтических препаратов. В настоящее время точные механизмы данного явления не изучены, однако его формирование у опухолевых клеток часто связывают с активацией системы множественной лекарственной устойчивости (МЛУ). В связи с этим повышение лекарственной устойчивости клеток ОМЛ в многоклеточных агрегатах может происходить на фоне избыточной экспрессии ABC-переносчиков или повышения их активности.

**Задачи исследования.** Изучить роль белков системы МЛУ семейства ABC в формировании лекарственной устойчивости клеток ОМЛ в многоклеточных агрегатах.

**Материалы и методы.** В качестве объекта исследования использовали клетки ОМЛ человека линий ТНР-1. Для формирования крупных многоклеточных агрегатов клетки высевали по  $5 \times 10^3$  клеток в лунку в 100 мкл полной ростовой среды в 96-луночные планшеты и выращивали на поверхности культурального пластика в течение 120 ч. Сравнение проводили с клетками ТНР-1, культивируемыми в тех же условиях после 24 ч культивирования. Через 24 ч культивирования крупные многоклеточные агрегаты отсутствовали. Роль белков МЛУ в реализации устойчивости клеток ОМЛ в многоклеточных структурах изучали с использованием эпопозиды (субстрат Р-gp, BCRP и MRP1); использовали специфические низкомолекулярные ингибиторы активации данных белков. Экспрессию белков системы МЛУ на поверхности клеток анализировали при помощи проточной цитометрии с использованием панели антител PE anti-human CD243 (MDR-1) (BioLegend, США), PE anti-human CD338 (ABCG2) (BioLegend, США), PE anti-human MRP1 (ABCC1) (BioLegend, США).

**Результаты.** Добавление низкомолекулярных ингибиторов Р-гликопротеида – С4 (Merck, США), белка MRP1 – Reversan (Merck, США) и белка BCRP – Ko143 (Sigma-Aldrich, США) не вызывало снижения устойчивости клеток ТНР-1 в многоклеточных агрегатах к действию эпопозиды. При анализе экспрессии белков системы МЛУ присутствие данных белков-транспортеров на клетках ТНР-1 выявлено не было как в опытных, так и в контрольных условиях.

**Выводы.** Полученные данные указывают на то, что в формировании лекарственной устойчивости клеток ОМЛ в многоклеточных структурах белки-транспортеры системы МЛУ, вероятно, не принимают участия. Мы предполагаем, что формирование лекарственной устойчивости в многоклеточных агрегатах у клеток ОМЛ, возможно, происходит за счет активации внутриклеточных антиапоптотических сигнальных путей.

## Исследование молекулярного механизма действия гипоксии в менингиомах человека

М.Л. Перепечаева, Е.В. Воронцова, С.М. Пятов,  
А.Ю. Гришанова

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики», Новосибирск

**Введение.** В развитии злокачественных опухолей большое значение имеет гипоксия. С одной стороны, она может стимулировать апоптоз опухолевых клеток, а с другой — определяет многие аспекты развития опухоли, способствуя ее прогрессии. Хотя главную роль в механизме развития гипоксии играет индуцируемый гипоксией транскрипционный фактор HIF-1 $\alpha$  и регулируемые им сигнальные пути, которые опосредуют ангиогенез, метаболизм глюкозы и клеточную пролиферацию, немаловажна и связь сигнального пути HIF-1 $\alpha$  с путем сигнальной трансдукции арилгидрокарбонowego рецептора (AhR). HIF-1 $\alpha$  в ядре образует комплекс с белком ARNT, ядерным переносчиком AhR, который может конкурировать за ARNT с HIF-1 $\alpha$ . AhR известен как активатор цитохромов P450 1 и как участник молекулярных каскадов, которые приводят к торможению пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток.

Работа проводилась на образцах операционного материала менингиом человека. Современная тактика лечения внутричерепных менингиом включает эндоваскулярную эмболизацию стромы опухоли, цель которой — избирательная облитерация сосудистой сети новообразования с сохранением кровоснабжения здоровых тканей. Лечебный эффект, как полагают, основан на ишемии и последующей гипоксии опухолевой ткани. Но результаты такого лечения неоднозначны, возможны рецидивы опухолевого роста и увеличение степени злокачественности, поэтому изучение молекулярных событий, происходящих в опухоли при индуцированной гипоксии, является актуальным.

**Задачи исследования.** Изучение в нативных и подвергнутых эндоваскулярной эмболизации менингиомах человека HIF-1 $\alpha$ - и AhR-зависимых сигнальных путей для выявления молекулярных основ ответа опухоли на гипоксию.

**Материалы и методы.** Из образцов была выделена РНК и переведена в комплементарную ДНК. Методом ПЦР в реальном времени оценивали уровень матричных РНК генов *HIF-1 $\alpha$* , *AhR*, *ARNT*; генов-мишеней HIF-1 $\alpha$ : сосудистого эндотелиального фактора роста клеток *VEGF-A*, переносчика глюкозы *GLUT1*, протоонкогена *c-Myc*, а также коактиватора ядерных рецепторов *NcoA2*.

**Результаты.** Установлено, что уровень матричных РНК генов *HIF-1 $\alpha$* , *VEGF-A*, *GLUT1* и *C-MYC* является одинаковым как в эмболизированных, так и неэмболизированных менингиомах человека. Вместе с тем

в менингиомах после эндоваскулярной эмболизации был снижен уровень матричных РНК *AhR*, *ARNT* и *NcoA2*.

**Выводы.** AhR-зависимый путь сигнальной трансдукции, видимо, играет более важную роль в механизме действия гипоксии в менингиомах, чем HIF-1 $\alpha$ -зависимый путь. Возможно, сниженный в результате гипоксического воздействия уровень белка *NcoA2* приводит к угнетению трансактивации респонсивного элемента AhR, как это показано, например, в клетках HEK293T, и именно коактиватор ядерных рецепторов *NcoA2* является ключевым белком, запускающим молекулярные каскады в подвергнутых гипоксии клетках менингиомы человека.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 16-04-00754).*

## Совместное ингибирование MEK и mTOR на BRAF-мутированных клетках меланомы

О.О. Рябая, А.А. Прокофьева, Д.А. Хоченков

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** При меланоме наблюдается гиперактивация сигнальных путей RAS-RAF-MEK-ERK и PI3K-AKT-mTOR. Таргетные препараты, направленные на блокирование данных каскадов, обладают низкой эффективностью ввиду вторично приобретаемой резистентности. Одновременное ингибирование PI3K-AKT-mTOR и RAS-RAF-MEK-ERK позволяет значительно снизить жизнеспособность клеток и является перспективным подходом при терапии меланомы кожи.

**Задачи исследования.** Изучить эффективность комбинированного действия рапамицина (RAP) и биниметиниба (MEK162) на BRAF-мутированных клеточных линиях меланомы (как чувствительных, так и резистентных к BRAF-терапии).

**Материалы и методы.** В работе использованы клеточные линии A375, Mel 1L и резистентная к вемурафенибу сублиния Mel 1L/R, полученная в результате длительного культивирования Mel 1L с вемурафенибом. Цитотоксичность RAP и MEK162 оценивалась МТТ-тестом. Количественным критерием цитотоксичности служил индекс IC<sub>50</sub>. Клеточный цикл и апоптоз оценивали на проточном цитометре NovoCyte. Изменение экспрессии белков mTOR, p-mTOR, AKT, p-AKT, MEK, p-MEK, cIPARP под действием препаратов исследовали методом иммуноблоттинга. Статистическая обработка проводилась с использованием программ GraphPad Prism 5.0, Image J.

**Результаты.** IC<sub>50</sub> MEK162 для линий A375 и Mel 1L/R составила 5,5 ± 0,7 мкмоль, для Mel 1L — 1,25 ± 0,2 мкмоль, IC<sub>50</sub> RAP — 453,7 ± 74,3 нмоль, для экспериментов брали MEK162 5 мкмоль и RAP 250 нмоль. Комбинация MEK162 и RAP увеличивала количество

клеток в фазе G0/G1 на 25 % в линиях Mel IL и Mel IL/R, на 15 % – в линии A375 относительно контроля. Комбинация MEK162 и RAP активировала апоптоз через 72 ч в 55 % клеток Mel IL/R, в 58 % – A375, в 87 % – Mel IL, при этом клетки Mel IL/R находились в стадии раннего апоптоза. Комбинация MEK162 и RAP снижала фосфорилирование MEK и mTOR во всех клеточных линиях. MEK162 и RAP активировали АКТ, но их комбинация снижала фосфорилирование белка. Комбинация препаратов повышала уровень cIPARP по сравнению с препаратами в монорежиме в 3 клеточных линиях.

**Выводы.** Нами показано, что комбинация MEK162 и RAP индуцирует апоптоз и приводит к аресту клеточного цикла в фазе G0/G1 на линиях меланомы, чувствительных и резистентных к BRAF-ингибиторам. Данная комбинация может быть перспективна для дальнейшего исследования.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 14-35-00107-П).*

## Экспрессия TRIM16 при раке предстательной железы: связь с особенностями гормональной рецепции

Л.В. Спирина<sup>1,2</sup>, А.К. Горбунов<sup>1</sup>, Е.А. Усынин<sup>1</sup>,  
И.В. Кондакова<sup>1</sup>, Е.М. Слонимская<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> НИИ онкологии, Томский НИМЦ;

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «СибГМУ» Минздрава России, Томск

**Введение.** Изучение молекулярных показателей, определяющих развитие и прогрессирование заболевания, является одной из актуальных проблем. В манифестации рака предстательной железы (РПЖ) важную роль играют андрогеновые рецепторы, однако и эстрогеновые рецепторы (ЭР-α, ЭР-β) могут определять особенности течения заболевания. Известно, что белок TRIM16 является онкосупрессором и обладает антиэстрогенным эффектом, однако его вклад в развитие РПЖ не изучен.

**Задачи исследования.** Определение экспрессии TRIM16, андрогеновых рецепторов (АР), ЭР-α, ЭР-β в ткани доброкачественной аденомы и РПЖ.

**Материалы и методы.** В исследование включено 65 больных местно-распространенным РПЖ (T2–3N0M0), а также 25 пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы. Экспрессию TRIM16, АР, ЭР-α определяли методом ПЦР в реальном времени.

**Результаты.** В ткани РПЖ отмечен рост экспрессии TRIM16 и ЭР-α соответственно в 5,80 и 30,33 раза по сравнению с показателями ткани аденомы. В обеих группах больных отмечен высокий уровень матричных РНК АР.

Выявлены связи изучаемых молекулярных показателей с клинико-морфологическими параметрами

заболевания. У больных с наличием инвазии в семенные пузырьки наблюдалось снижение экспрессии TRIM16 в 4 раза по сравнению со значениями показателя у пациентов без инвазии, причем оно протекало на фоне роста экспрессии АР и ЭР-α в 1,78 и 3,90 раза соответственно. При этом наличие регионарных и отдаленных метастазов приводило к значительному торможению экспрессии TRIM16 (в 3,5 раза) по сравнению с ее уровнем у пациентов с локализованным раком, что подтверждает онкосупрессорную роль данного белка.

Выявлено увеличение экспрессии ЭР-β у пациентов с РПЖ с ростом показателя Глисона и снижением степени дифференцировки опухоли. Эта зависимость была подтверждена корреляционным анализом ( $r = 0,3$ ,  $p < 0,05$ ). Также были установлены ассоциации между уровнем ПСА и экспрессией TRIM16 ( $r = -0,38$ ,  $p < 0,05$ ), ЭР-β ( $r = 0,33$ ,  $p < 0,05$ ).

**Выводы.** Развитие РПЖ связано с ростом экспрессии TRIM16, ЭР-α. Развитие метастазов заболевания связано со снижением TRIM16, что ассоциировано с повышением уровня ПСА. Выявлено увеличение экспрессии ЭР-β при увеличении коэффициента Глисона и ПСА, что характерно для агрессивного роста опухоли. Следовательно, молекулярные маркеры играют важную роль в развитии злокачественных новообразований, что, однако, требует дальнейшего изучения.

## Регуляция экспрессии BRCA1 и эстрогеновых рецепторов в клетках рака молочной железы

Е.А. Шестакова, А.М. Щербаков, О.М. Рябинина,  
А.Н. Гришанина, К.Е. Галева, Т.А. Богуш

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** BRCA1, ключевой регулятор репарации ДНК, участвует в поддержании стабильности генома. Нарушение функционирования BRCA1 ассоциировано с развитием ряда онкологических заболеваний, включая РМЖ и рак яичников. К настоящему времени получены данные о взаиморегуляции экспрессии BRCA1 и эстрогеновых рецепторов α (ЭР-α).

**Задачи исследования.** Изучение влияния гипоксии, эстрогенов и антиэстрогенов на экспрессию BRCA1 и рецепторов эстрогенов в клетках гормонозависимого РМЖ.

**Материалы и методы.** Клетки РМЖ линии MCF-7 культивировали в среде DMEM с 10 % сыворотки телят. В условиях гипоксии (1 % O<sub>2</sub>) клетки инкубировали 24 ч при отсутствии или в присутствии 10 мкмоль тирапазамина (TPZ). Инкубацию с 17β-эстрадиолом (E2, 10 нмоль и/или тамоксифеном (5 мкмоль) проводили в течение 24 ч в среде без стероидов. Для строго количественной оценки экспрессии BRCA1 и ЭР-α применялся иммунофлуоресцентный метод, ассоциированный

с проточной цитофлуориметрией; использованы антитела, специфичные к BRCA1 (SD118), ЭР- $\alpha$  (SP-1, ab27614), вторичные антитела, конъюгированные с DuLight 650 (ab98729, ab98510), проточный цитофлуориметр Navios (Beckman Coulter, США). Статистическая обработка проведена методом Колмогорова–Смирнова с помощью программы FlowJo (США).

**Результаты.** 1. В условиях гипоксии наблюдалось уменьшение интенсивности и индекса экспрессии BRCA1 и ЭР- $\alpha$  по сравнению с показателями контрольных клеток (в 1,3 и 1,4 раза; в 1,2 и 1,4 раза соответственно). 2. Инкубация клеток с TPZ, вызывающим двухцепочечные разрывы в молекуле ДНК в условиях гипоксии, приводила к увеличению индекса экспрессии BRCA1 в 1,6 раза, при этом индекс экспрессии ЭР- $\alpha$  уменьшился в 4,1 раза. 3. Продemonстрировано воздействие эстрогена E2 и антиэстрогена тамоксифена на экспрессию ЭР- $\alpha$ . При инкубации с E2 интенсивность и индекс экспрессии ЭР- $\alpha$  снизились в 3,9 и 4,3 раза соответственно. При воздействии антиэстрогена тамоксифена оба показателя снизились в 1,6 раза. Инкубация с E2 и тамоксифеном приводила к уменьшению интенсивности и индекса экспрессии ЭР- $\alpha$  в 2,9 и 3,1 раза соответственно. При этом инкубация с эстрогенами и антиэстрогенами не вызывала изменений в экспрессии BRCA1.

**Выводы.** Полученные результаты свидетельствуют о частичной функциональной инактивации BRCA1 и ЭР- $\alpha$  в клетках РМЖ линии MCF-7, культивируемых в гипоксии. Гипоксический цитотоксин (TPZ) вызывает восстановление экспрессии BRCA1 с параллельным снижением экспрессии ЭР- $\alpha$ . Несмотря на влияние эстрогенов и тамоксифена на экспрессию ЭР- $\alpha$ , в условиях эксперимента влияния этих гормональных регуляторов на экспрессию BRCA1 не наблюдалось. В целом результаты открывают перспективы комплексного исследования воздействия гипоксии и гормонов на процессы репарации ДНК, стабильность генома и регуляцию роста клеток РМЖ.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты № 15-04-06991-а, 15-04-02172).*

## Эффект координированной активации mTOR и AKT-сигналинга при развитии приобретенной резистентности опухолей к рапамицину

Ю.Ю. Щеголев, А.М. Щербаков, В.А. Шатская,  
М.А. Красильников

*НИИ канцерогенеза, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва*

**Введение.** Хорошо известно, что одним из основных факторов, снижающих эффективность противоопухо-

левых препаратов, является резистентность опухолей к их действию — либо врожденная, либо приобретенная в процессе терапии. Вопрос о резистентности опухолей к препаратам, действующим на mTOR-сигнальный путь, несмотря на очевидную актуальность, практически не исследован — во многом из-за относительно непродолжительного опыта их применения в качестве противоопухолевых соединений.

**Задачи исследования.** Изучение механизма резистентности злокачественных опухолей к ингибитору mTOR рапамицину.

**Материалы и методы.** Клетки РМЖ MCF-7, MDA-MB-231 и немелкоклеточного рака легкого NCI-H1299 культивировали с рапамицином в режиме возрастающей концентрации препарата в течение 90 сут, затем клетки переводили в стандартную среду без добавок и продолжали культивирование в течение 60 сут. Анализ скорости роста клеток (МТТ-тест) показал, что такие клетки отличаются выраженной устойчивостью к цитостатическому действию рапамицина по сравнению с исходными родительскими клетками.

**Результаты.** При исследовании mTOR-сигнального пути мы обнаружили существенную активацию mTOR во всех вариантах резистентных клеток, причем высокий уровень mTOR сохранялся и при однократной обработке клеток рапамицином. Одновременно в резистентных клетках отмечается повышенный уровень АКТ — основного антиапоптотического белка PI3K-сигналинга. Примечательно, что лишь длительная обработка клеток рапамицином приводит к активации АКТ, в то время как однократное добавление рапамицина не влияет на уровень АКТ.

**Выводы.** Формирование резистентности к рапамицину в клетках злокачественных опухолей различного происхождения развивается по универсальному механизму, включающему активацию mTOR-сигнального пути и повышение активности АКТ. Дальнейшее продолжение этих исследований позволит идентифицировать комплексные изменения внутриклеточного сигналинга, характерные для резистентных клеток, и оценить их значение в развитии приобретенной резистентности клеток к ингибиторам mTOR.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 16-04-00347).*

## Тезисы

### Влияние интегринов на апоптоз опухолевых клеток может осуществляться через механизм, основанный на неканонических функциях сигнальных протеинкиназ

Н.И. Козлова<sup>1</sup>, Г.Е. Морозевич<sup>1</sup>, О.Ю. Сусова<sup>2</sup>, А.Е. Берман<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича», Москва;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

На моделях клеточных линий MCF-7 РМЖ и SK-Mel-147 меланомы человека исследовали участие интегрин  $\alpha$ -2/ $\beta$ -1 в механизмах субстрат-зависимого апоптоза (аноикиса). С этой целью определяли изменение аноикиса в ответ на модификации экспрессии указанного рецептора. Показано, что подавление  $\alpha$ -2/ $\beta$ -1 путем трансдукции  $\alpha$ -2-специфической shRNA существенно усиливает аноикис клеток обеих линий. Эти изменения в обоих типах клеток сопровождались увеличением активности проапоптотического белка p53 и ингибиторов клеточного цикла и снижением активности антиапоптотического белка Bcl-2. В то же время выявлены различия между указанными линиями в изменениях ключевых сигнальных протеинкиназ — Erk1/2 и Akt. Оказалось, что подавление рецептора  $\alpha$ -2/ $\beta$ -1 в клетках MCF-7 резко увеличивает активность обеих изоформ протеинкиназы Erk1/2, но не влияет на активность Akt, в то время как клетки меланомы реагируют на супрессию  $\alpha$ -2/ $\beta$ -1 обратным образом — повышением активности Akt без изменения активности Erk1/2. Возможное объяснение этих различий заключается в том, что указанные протеинкиназы выполняют в исследуемых клетках нехарактерные для них (неканонические) функции, а именно в клетках MCF-7 стимуляция аноикиса, вызванная супрессией  $\alpha$ -2/ $\beta$ -1, реализуется через повышение активности Erk1/2, а в линии SK-Mel-147 — путем активации Akt. Для проверки этих допущений исследовали влияние специфических ингибиторов Erk1/2 и Akt на аноикис исследуемых линий. Выяснилось, что фармакологическое ингибирование Erk1/2 в клетках MCF-7 с супрессией интегрин  $\alpha$ -2/ $\beta$ -1 снижает аноикис до уровня контрольных клеток. Аналогичный эффект наблюдали в линии SK-Mel-147 при обработке клеток ингибитором Akt. Результаты исследований роли трех изоформ этой протеинкиназы (Akt1, Akt2, Akt3) показали, что «неканоническим» действием на аноикис клеток меланомы обладает изоформа Akt1, в то время как другие изоформы этим свойством не обладают.

Известно, что сигнальные протеинкиназы играют ключевую роль в поддержании жизнеспособности нормальных и опухолевых клеток; это свойство, на котором основано применение их ингибиторов в качестве противоопухолевых средств. Представленные данные свидетельствуют о том, что в некоторых опухолях эти ферменты могут выполнять «обратные» (неканонические) функции, и эту особенность следует учитывать при выборе терапии конкретной неоплазии.

### Особенности экспрессии фермента топоизомеразы II $\alpha$ при разном рецепторном статусе клеток карциномы молочной железы

С.В. Сазонов<sup>1,2</sup>, Е.А. Новикова<sup>1</sup>, Н.В. Казанцева<sup>2</sup>, Е.В. Быстрова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург;

<sup>2</sup>ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург

В гормон-рецептор-позитивном HER2-негативном подтипе карциномы молочной железы с низким уровнем пролиферации (Ki-67 < 10 %) уровень экспрессии Топ-II $\alpha$  статистически значимо ниже среднего общего уровня экспрессии Топ-II $\alpha$  в клетках инвазивной неспецифического типа (протоковой) карциномы молочной железы. Так как этот подтип отличается относительно низким уровнем клеточной пролиферации и опухолевые клетки находятся под влиянием гормонов, усиление пролиферации происходит за счет увеличения эстрогеновых и прогестероновых рецепторов, которые контролируют геномный путь регуляции клеточного деления. При этом большая часть опухолевых клеток находится в фазе G<sub>0</sub> клеточного цикла, в которой белок Ki-67 иммуногистохимическим методом не определяется.

В гормон-рецептор-негативных опухолях (как HER2-позитивных, так и HER2-негативных) уровень экспрессии Топ-II $\alpha$  достоверно выше по сравнению с общим средним уровнем экспрессии Топ-II $\alpha$  в опухолевых клетках. В опухолях с гиперэкспрессией белка HER2/neu уровень экспрессии Топ-II $\alpha$  достоверно выше, но не выявлено достоверной разницы между экспрессией Топ-II $\alpha$  в опухолях с амплификацией гена HER2 и без его амплификации. Протеинкиназы могут усиливать фосфорилирование Топ-II $\alpha$ , активируя ее при митозе. Это подтверждает обнаруженная сильная корреляционная связь экспрессии Топ-II $\alpha$  с уровнем маркера

клеточной пролиферации Ki-67, который повышается в фазах G<sub>2</sub> и M клеточного цикла.

Отсутствие корреляционной связи между Top-IIa и рецепторами стероидных гормонов доказывает, что гормонозависимые пути регуляции в опухолевых клетках молочной железы не влияют на экспрессию Top-IIa, но из-за наличия перекреста с EGFR блокировка данных путей регуляции может привести к активации MAPK-внутриклеточного пути.

Повышение уровня экспрессии Top-IIa обнаружено в опухолевых клетках карцином молочной железы с более высокой пролиферативной активностью (Ki-67 >20 %), отсутствием рецепторов к гормонам и гиперэкспрессией белка HER2/neu, вне зависимости от амплификации его гена.

## Развитие перекрестной резистентности клеток рака молочной железы к препаратам противоопухолевой терапии

С.Е. Семина, Е.А. Руденская, М.А. Красильников  
НИИ канцерогенеза, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Проблеме развития гормональной резистентности злокачественных новообразований посвящено достаточно много работ, установлены основные пути развития резистентности, подробно исследованы модели резистентности *in vitro*. Существенно меньше известно об участии межклеточных взаимодействий в развитии гормональной резистентности клеток РМЖ.

В настоящей работе на модели культивируемых *in vitro* клеток эстрогенозависимого РМЖ MCF-7 исследовалась роль паракринных факторов в развитии и поддержании приобретенной гормональной резистентности. Резистентные сублинии MCF-7/T и MCF-7/M получены независимым путем в условиях длительного культивирования родительских клеток MCF-7 с тамоксифеном или метформинном (бигуанидом, блокирующим активность эстрогеновых рецепторов) соответственно. Полученные сублинии отличались перекрестной резистентностью к цитостатическому действию тамоксифена и метформина.

Ранее мы показали, что совместное культивирование родительских клеток MCF-7 с резистентными клетками MCF-7/T или MCF-7/M приводит к развитию частичной резистентности к тамоксифену и метформину у родительских клеток MCF-7. В какой мере экзосомы могут стимулировать развитие гормональной резистентности? Для ответа на этот вопрос мы исследовали влияние препаратов экзосом, выделенных из резистентных клеток MCF-7/T, на чувствительность к тамоксифену родительских клеток MCF-7. В качестве контроля использовали экзосомы, выделенные

из клеток MCF-7. Оказалось, что регулярное добавление (в течение 10 сут) к клеткам MCF-7 экзосом, полученных от резистентных клеток, приводит к развитию частичной резистентности клеток MCF-7 к тамоксифену и метформину. В то же время добавление экзосом, полученных от родительских клеток MCF-7, не приводит к изменению гормональной чувствительности клеток. Аналогичная закономерность обнаружена при изучении экзосом, выделенных из клеток MCF-7/M: культивирование клеток MCF-7 с такими экзосомами обуславливает развитие частичной резистентности к тестируемому соединению.

Дальнейшие исследования показали, что как исходные резистентные клетки, так и клетки с индуцированной экзосомами резистентностью характеризуются общими изменениями ключевых сигнальных белков: активацией белков эпителиально-мезенхимального перехода (Snail1); белков, ассоциированных с регуляцией роста и выживаемости (AP-1, NF-κB, Akt), и снижением активности эстрогеновых рецепторов.

В целом полученные результаты свидетельствуют об участии экзосом в развитии и распространении гормональной резистентности, и мы рассчитываем, что продолжение этих исследований позволит установить детальный механизм подобного варианта распространения резистентности.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ (проекты № 16-04-00347 и 16-34-01031).*

## Особенности каскада образования плазмина в глиомах и менингиомах головного мозга

Е.М. Франциянц, О.И. Кит, Л.С. Козлова, Э.Е. Росторгуев, Ю.А. Погорелова

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

**Введение.** Рост злокачественных опухолей сопровождается секрецией гидролаз, разрушающих окружающие ткани, при котором важную роль играет система фибринолиза.

**Задачи исследования.** Определение компонентов системы фибринолиза и PAI-1 в глиомах и менингиомах головного мозга.

**Материалы и методы.** Методом иммуноферментного анализа исследована ткань опухоли, перифокальная зона глиом и менингиом. Определение проводили в 10 % гомогенатах, приготовленных на стандартном физиологическом растворе. Ткань перифокальной зоны менингиом считали контрольной, с ней сравнивали изменения в остальных тканях.

**Результаты.** В ткани перифокальной зоны глиом содержание плазминогена (ПГ), PAI-1 (PAI-1-АГ), проурокиназы (uPA-АГ) было выше, чем в ткани менингиом, в 1,3 ( $p < 0,01$ ); 7,0; 2,9 раза соответственно.

Содержание плазмина в комплексе с  $\alpha_2$ -антиплазмином (РАР), урокиназы (uРА-акт), тканевого активатора пламиногена (tРА-АГ и tРА-акт) в ткани перифокальной зоны глиом было ниже, чем в ткани перифокальной зоны менингиом, в 1,4; 1,5; 3,6 и 7,6 раза соответственно. В ткани менингиом и глиом, в перифокальной зоне глиом количество ПГ было одинаковым. Уровень РАР, РАI-1-АГ, РАI-1-акт и uРА-АГ в ткани глиом был выше, чем в ткани менингиом, соответственно в 1,5; 21,7; 3,4 и 1,3 раза, а уровень uРА-акт, tРА-АГ и tРА-акт – ниже в 1,2; 2,7 и 8,4 раза соответственно. Коэффициенты РАI-1-АГ/РАI-1-акт, uРА-АГ/uРА-акт, tРА-АГ/tРА-акт, РАI-1-акт/uРА-акт и РАI-1-акт/tРА-акт были резко повышены во всех тканях глиом по сравнению с менингиомами ( $p < 0,001$ ), только пламиноген/РАР в ткани глиом был ниже, чем в ткани менингиом и перифокальной зоне глиом, в 1,3 и 1,2 раза ( $p < 0,05$ ). В ткани глиом uРА-АГ накапливался в боль-

шем количестве, чем в ткани менингиом, хотя uРА-акт с небольшим преимуществом преобладал в ткани менингиом. Создание «депо» uРА в глиомах свидетельствует о высоком потенциале их злокачественности и о секреции этой протеиназы опухолью: в перифокальной зоне глиом uРА-АГ был в 1,5 раза меньше. Накопление обеих форм tРА в перифокальной зоне и ткани менингиом в сравнении с этими показателями в глиомах позволяет предполагать усиленное его потребление в последних, тем более что уровень РАI-1-АГ/РАI-1-акт в их тканях при увеличении обоих компонентов на порядок выше, чем в тканях менингиом.

**Выводы.** 1. Содержание РАI-1-АГ, РАI-1-акт и uРА-АГ преобладало в тканях глиом, обеих форм tРА – в тканях менингиом. 2. Плазмин блокирован  $\alpha_2$ -антиплазмином в перифокальной зоне менингиом в большей степени, чем в остальных тканях, т. е. в глиомах оставалось больше свободного плазмина.

## СЕКЦИЯ V

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К РАЗРАБОТКЕ  
ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

## Доклады

**Производные  
4-амино-5-(тиазол-2-ил)  
пиримидина – новые эффективные  
ингибиторы EGFR-зависимых  
сигнальных каскадов**

А.С. Бунев<sup>1</sup>, Е.В. Сухонослова<sup>1</sup>, К.Ю. Талина<sup>1</sup>,  
Д.А. Хоченков<sup>2</sup>, Ю.А. Хоченкова<sup>2</sup>, Е.В. Степанова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Тольяттинский государственный университет»;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России; Москва

Разработка новых высокоэффективных ингибиторов рецепторных тирозиновых киназ, в частности рецепторов семейства эпидермального фактора роста, является актуальной задачей для создания таргетных противораковых соединений.

В представленной работе обобщены результаты по молекулярному моделированию, химическому синтезу и исследованиям *in vitro* (МТТ, иммунофлуоресцентное исследование, исследование клеточного цикла) ряда соединений, содержащих в качестве базового скаффолда 4-амино-5-(тиазол-2-ил) пиримидиновый фрагмент. Показано, что цитотоксическое действие на клеточную линию рака легкого A549, обильно экспрессирующую EGFR<sup>wt</sup>, находится на уровне IC<sub>50</sub> 4,39–420 мкмоль/л и для некоторых соединений, таких как ASB1-ASB3, превосходит цитотоксичность эрлотиниба и gefитиниба в 5–10 раз. В исследовании по иммунофлуоресцентному окрашиванию клеток A549 показано, что значительное снижение экспрессии фосфорилированных сигнальных киназ pEGFR, pAkt и pERK1/2 по отношению к индуцированному EGF контролю особенно высоко для соединения ASB3.

Полученные результаты являются отправной точкой по выявлению нового хемотипа ингибиторов рецепторных киназ семейства эпидермального фактора роста.

**Создание эффективных носителей  
для направленной доставки  
лекарственных препаратов:  
возможности и перспективы**

О.В. Дементьева, В.М. Рудой

ФГБУН «Институт физической химии и электрохимии  
им. А.Н. Фрумкина РАН», Москва

Создание носителей лекарственных препаратов (ЛП) с целью их направленной доставки является одной из ключевых биомедицинских задач. Это позволяет существенно снизить риск возникновения побочных эффектов и повысить эффективность действия ЛП за счет его локального высвобождения.

Нами проведен анализ возможности и перспективы решения этой задачи с использованием нано- и субмикроразмерных частиц. Сопоставлены преимущества и ограничения прививки ЛП на поверхность наночастиц благородных металлов и их загрузки в частицы-носители.

Основное внимание уделено подходам, базирующимся на загрузке ЛП в мезопористые частицы-контейнеры (МЧК) из кремнезема, полученные путем темплатного золь-гель-синтеза. Представлены оригинальные данные, свидетельствующие о возможности использования в качестве темплатирующих агентов дифильных лекарственных препаратов (в том числе противоопухолевых), т. е. совмещения стадий синтеза МЧК и загрузки в них ЛП (O.V. Dementieva et al., 2016; O.V. Деметтьева и др., 2016; O.V. Деметтьева и др., 2017).

Содержание темплатирующего ЛП в полученных таким способом МЧК может достигать 1 г/1 г SiO<sub>2</sub> и более. Кроме того, такие структуры характеризуются достаточно высокой чувствительностью к pH среды, что позволяет в широких пределах варьировать скорость выхода капсулированного ЛП. Разработанный

подход может быть применен и к капсулированию пролекарств (О.В. Дементьева и др., 2017).

*Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (проект 16-03-00118).*

## Влияние наночастиц оксида марганца на формирование стресс-гранул и метаболизм глиобластомы человека

Ю.Б. Дорофеева<sup>1</sup>, Н.Б. Илларионова<sup>2</sup>, Д.В. Петровский<sup>2</sup>, М.П. Мошкин<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Национальный исследовательский Томский государственный университет;

<sup>2</sup>ФГБУН ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

**Введение.** Известно, что наночастицы (НЧ) способны проникать в головной мозг при интраназальном введении. На моделях мышей с опухолью головного мозга было показано их преимущественное накопление в очаге новообразования, и это свойство НЧ может быть использовано в разработке препаратов для диагностики и лечения опухолей головного мозга. Оценку токсического действия наночастиц на клетки глиобластомы в данном исследовании проводили, определяя количество клеток, содержащих стресс-гранулы. Стресс-гранулы состоят из мРНК и белковых комплексов и образуются в цитоплазме клеток при неблагоприятных условиях. Их формирование является энергозависимым процессом. Как известно, опухолевые клетки производят энергию преимущественно с помощью гликолиза, поэтому было решено оценить влияние НЧ, индуцирующих образование стресс-гранул, на метаболизм в клетках глиобластомы.

**Задача исследования.** Изучение эффекта НЧ на клетки глиобластомы человека: влияние на клеточный метаболизм и формирование стресс-гранул.

**Материалы и методы.** Клетки линии U87-MG инкубировали 2 ч с перечисленными НЧ в концентрации 50–70 мкг/мл: Ru(OH)<sub>2</sub>, Co<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, C, CeO<sub>2</sub>, Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> и Mn<sub>2</sub>O<sub>3</sub> в растворе цитрата натрия. В качестве отрицательного контроля использовали SiO<sub>2</sub>, а положительного – индуктор образования стресс-гранул олигомицин (10 мкМ). Проинкубированные клетки окрашивали методом иммуноцитохимии для оценки маркера η-субъединицы эукариотического фактора инициации 3 (eIF3 η), входящего в так называемое ядро стресс-гранул. Микрофотографии проанализированы для определения процента клеток со стресс-гранулами от общего числа клеток. Для оценки влияния НЧ на клеточный гликолиз использована платформа Seahorse XFp Analyzer (Aligent) с использованием стандартного метода определения уровня гликолитического стресса. Преинкубация клеток U87-MG с НЧ Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> проводилась 2 и 48 ч.

**Результаты.** Мы провели скрининг влияния различных НЧ на формирование стресс-гранул в цитоплазме глиобластомы человека U87-MG. Обнаружено, что НЧ Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> достоверно увеличивают процент клеток со стресс-гранулами (0,7 ± 0,3 % контроль; 13,6 ± 1,9 % Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> и 15,9 ± 2,2 % Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> с цитратом натрия; ONE-way ANOVA *p* < 0,001). Стресс-гранулы начинали формироваться уже через 15 мин после введения НЧ Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. Другие НЧ не приводили к формированию стресс-гранул. Далее мы провели анализ клеточного метаболизма глиомы. Через 2 ч инкубации с НЧ Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> существенных изменений в гликолизе не обнаружено. Через 48 ч инкубации глиомы с НЧ Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> было обнаружено значительное снижение гликолиза по сравнению с контролем (в контроле 95,9 ± 18,4 ECAR/мкг, с НЧ Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 37,8 ± 3,8 ECAR/мкг ONE-way ANOVA *p* < 0,01).

**Выводы.** Мы установили, что НЧ Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> подавляют гликолиз в клетках глиобластомы и приводят к формированию стресс-гранул в их цитоплазме. С учетом полученных результатов следует рассмотреть возможность использования НЧ Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> для разработки препаратов против глиальных опухолей человека.

## Разработка ингибиторов разных форм тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы 1 в качестве лекарственных препаратов

Н.С. Дырхеева<sup>1</sup>, А. Л. Захаренко<sup>1</sup>, А.О. Комарова<sup>1,2</sup>, Е.М. Мамонтова<sup>1,2</sup>, Е.С. Ильина<sup>1</sup>, О.Д. Захарова<sup>1</sup>, М.С. Дреничев<sup>3</sup>, В.Е. Ословский<sup>3</sup>, С.Н. Михайлов<sup>3</sup>, Й. Рейниссон<sup>4</sup>, О.И. Лаврик<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»;

<sup>3</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва;

<sup>4</sup>Университет Окленда, Новая Зеландия

Традиционная противоопухолевая терапия использует ДНК-повреждающие агенты, в частности ингибиторы топоизомераз. Системы репарации ДНК противостоят таким агентам, снижая эффективность лечения. Перспективной мишенью для повышения эффективности противоопухолевой терапии является фермент репарации ДНК тирозил-ДНК-фосфодиэстераза 1 (Tdp1), удаляющая повреждения с 3'-конца ДНК. Природным субстратом Tdp1 является ковалентный комплекс топоизомеразы 1 (Top1) с ДНК. Эффективность ингибиторов Top1, используемых в клинике, ограничена вследствие активности Tdp1. Подавление Tdp1 может повысить эффективность ингибиторов Top1, таким образом повышая их терапевтический эффект. Кроме того, природный мутант Tdp1 с заменой His493Arg индуцирует нейродегенеративное заболевание –

спиноцеребеллярную атаксию с аксональной нейропатией (SCAN1). Подавление активности SCAN1 может улучшить состояние пациентов и предотвратить прогрессирование заболевания. Таким образом, разработка ингибиторов Tdp1 и SCAN1 в качестве кандидатов в лекарственные препараты является многообещающей задачей при лечении рака и синдрома SCAN1.

Проведен скрининг новых синтетических аналогов природных соединений на основе производных дисахаридных нуклеозидов и азотистых оснований, а также производных дикумарина как ингибиторов Tdp1 и SCAN1. Обнаружено несколько новых соединений-лидеров, которые снижают скорость реакции, катализируемой Tdp1 и SCAN1, в микромолярном диапазоне концентраций. Впервые обнаружены ингибиторы SCAN1. Для ведущих соединений определены параметр  $IC_{50}$  (полумаксимальная ингибирующая концентрация), а также кинетические параметры реакции, катализируемой Tdp1, и тип ингибирования. В ходе работы впервые найдены новые аспекты механизма реакции, катализируемой Tdp1. Показано, что большинство соединений-лидеров не токсичны в отношении опухолевых и неопухолевых перевиваемых клеточных линий, что является преимуществом для создания противоопухолевых коктейлей. Для некоторых опухолевых клеточных линий наблюдалось усиление цитотоксического действия ингибитора Top1 топотекана в присутствии новых обнаруженных соединений-лидеров. Полученные результаты могут быть использованы для разработки сенсibilизаторов опухолевых клеток к действию ингибиторов Top1, используемых в клинике.

*Работа поддержана грантами РНФ 17-74-10057 и РФФИ 17-04-01071.*

## Метаболический модулятор TX-14 в качестве нового подхода в терапии онкологических заболеваний

А.Г. Иксанова, М.В. Пугачев, Н.В. Штырлин,  
Нгуен Т.Н. Тханг, Г.Д. Алекбаева, А.Х. Сабилов,  
Р.Р. Габбасова, Т.В. Куприянова, К.В. Балакин,  
Ю.Г. Штырлин

*Научно-образовательный центр фармацевтики,  
Казанский (Приволжский) федеральный университет*

Большая часть существующих и разрабатываемых противоопухолевых лекарственных препаратов направлена на гибель опухолевых клеток, а не на их терапию. Впервые гипотезу происхождения опухолевых клеток по причине дисбаланса между аэробным и анаэробным метаболизмом высказал Отто Варбург. В рамках данного проекта предлагается подход выстраивания нового, характерного для нормальных клеток гомеостаза путем постепенного возврата от аэробного гликолиза

к окислительному фосфорилированию с помощью метаболического модулятора TX-14.

В исследованиях *in vitro* показано, что TX-14 способствует повышению чувствительности последних к действию цитотоксиков, в частности доксорубина, в 1,8 раза. Снижая внутриклеточные уровни активных форм кислорода, TX-14 индуцирует пролиферацию клеток MCF-7. TX-14 приводит к увеличению содержания митохондрий, повышению митохондриального потенциала, способствует общему переходу от гликолитического типа метаболизма к окислительному фосфорилированию путем активации цикла трикарбоновых кислот, а также активации дыхательной цепи митохондрий. В ходе инкубации в течение 49 дней наблюдаются постепенное снижение экспрессии маркеров РМЖ и гиперэкспрессия белков, входящих в состав дыхательной цепи митохондрий. Кроме того, наблюдается гиперэкспрессия генов плюрипотентности *Oct4*, *Sox2*, *nanog*, *c-myc* при отсутствии влияния на экспрессию маркеров раковых стволовых клеток CD44, CD24 и ALDH1A1 и влияния на инвазивные свойства.

В модели ксенографтов *in vivo* при внутрибрюшинной терапии в течение 40 дней и последующем 30-дневном периоде постнаблюдения показана 100 % выживаемость всех опытных мышей в отличие от контрольной группы животных (60 %). TX-14 в дозах 3, 6 и 9 мг/кг приводит к снижению массы активно пролиферирующей опухолевой ткани молочной железы человека в 2–5 раз, однако не приводит к понижению объемов опухоли.

Таким образом, проведенные исследования позволяют предложить новый подход, основанный на терапии опухолевых клеток путем регуляции внутриклеточного аэробного и анаэробного метаболизма.

## Формирование спектра вторичного излучения при модификации поверхности наночастиц золота

В.Н. Морозов<sup>1,2</sup>, А.В. Белоусов<sup>1</sup>, Г.А. Крусанов<sup>3</sup>,  
М.А. Кольванова<sup>2</sup>, А.П. Черняев<sup>1,3</sup>, А.А. Штиль<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Физический факультет ФГБОУ ВО «МГУ  
им. М.В. Ломоносова»;

<sup>2</sup>ФГБУ «ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России», Москва;

<sup>3</sup>НИИ ядерной физики им. Д.В. Скобельцина МГУ  
им. М.В. Ломоносова;

<sup>4</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** Наночастицы золота — перспективные кандидаты для использования в качестве радиосенсибилизаторов при лучевой терапии опухолей благодаря высокой вероятности взаимодействия с фотонным излучением за счет высокого атомного номера ( $Z_{Au} = 79$ ). Поглощая энергию ионизирующего излучения, наночастица испускает вторичные электроны, которые осуществляют прямые и непрямые повреждения клеточных

мишеней. Поверхность наночастиц модифицируют для направленной доставки в опухоль и предотвращения агрегации в средах с высокой ионной силой (плазма крови).

**Задачи исследования.** Изучение влияния модификации поверхности наночастицы полиэтиленгликолем (ПЭГ) на спектр вторичного излучения при облучении гамма-квантами  $^{60}\text{Co}$ .

**Материалы и методы.** Математическое моделирование облучения методом Монте-Карло выполнено с помощью программного кода Geant4. Моделирование производилось пучком фотонов круглого сечения диаметром 60 нм с энергиями 1,17 МэВ и 1,33 МэВ, что соответствует излучению  $^{60}\text{Co}$ . Модель наночастицы золота диаметром 17 нм покрыта оболочкой ПЭГ толщиной 8,5 нм. Такая толщина близка к размеру макромолекулы ПЭГ с  $M = 5000$  г/моль.

**Результаты.** Под действием гамма-излучения в оболочке происходят несколько процессов: генерируется вторичное излучение и в то же время поглощается часть электронов, образовавшихся в золоте. Поскольку оболочка состоит из легких элементов и имеет малые размеры, наибольшие изменения претерпевают низкоэнергетичные электроны.

Потери электронов, образовавшихся внутри наночастицы и преодолевших оболочку, составили 18,7 % от общего числа покинувших оболочку вторичных электронов. Внутри оболочки образовалось значительное количество комптоновских электронов. Количество же фотоэлектронов, генерируемых в оболочке, крайне незначительно. Вклад в низкоэнергетичную компоненту спектра вторичных электронов от оболочки не превосходит потери.

**Выводы.** Таким образом, оболочка наночастицы представляет собой важный функциональный компонент, дизайн которого следует оптимизировать с учетом конкретной стратегии облучения.

## Способность новых тритерпеноидов лупанового типа преодолевать множественную лекарственную устойчивость опухолевых клеток

Е.Ю. Рыбалкина<sup>1</sup>, Н.И. Моисеева<sup>1</sup>, О.Ю. Сусова<sup>1</sup>,  
А.В. Коньшева<sup>2</sup>, А.В. Назаров<sup>2</sup>, В.В. Гришко<sup>2</sup>,  
А.Ф. Карамышева<sup>1</sup>

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва;

Институт технической химии ПФИЦ УрО РАН, Пермь

Множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) опухолевых клеток может возникать в результате лечения пациентов различными химиотерапевтическими агентами и представляет значительную проблему в терапии рака. Одним из наиболее исследованных

механизмов МЛУ является способность клеток выбрасывать наружу токсические вещества с помощью транспортных белков семейства ABC (ABC-транспортеры), к которым относится Р-гликопротеин (Pgp, или ABCB1), кодируемый геном *MDR1*, а также такие транспортные белки, как MRP1 (ABCC1), LRP/Mvp, BCRP/MXR (ABCG2).

В работе методом МТТ изучалось цитотоксическое действие новых синтезированных тритерпеноидов, NM-3R и PN-14-4V, на культуры 2 неопухолевых и 9 опухолевых линий клеток различного происхождения, а также на сублинии клеток с МЛУ. Оба соединения были избирательны по отношению к опухолевым линиям клеток: диапазон  $IC_{50}$  в отношении опухолевых клеток составил 0,75–16 мкмоль, в отношении к фибробластам человека –  $24,0 \pm 0,1$  мкмоль (NM-3R) и к условно нормальным клеткам молочной железы человека MCF10A –  $87 \pm 3$  мкмоль (NM-3R) и  $36,9 \pm 3,5$  мкмоль (PN-14-4V). При сравнении токсического действия тритерпеноидов на родительские опухолевые клетки HBL100, K562, KB-3-1 и полученные из них устойчивые сублинии HBL/Dox400, K562/i-S9 и KB-8-5 оказалось, что они практически с одинаковой эффективностью действуют как на исходные родительские клетки, так и на клетки, устойчивые к действию лекарственных препаратов.

При исследовании в клеточных линиях экспрессии генов МЛУ (*MDR1*, *MRP1*, *LRP/MVP*, *BCRP*) во всех устойчивых сублиниях клеток наблюдалось существенное усиление экспрессии гена *MDR1* по сравнению с родительскими линиями клеток. Исследование методом проточной цитометрии способности тритерпеноидов взаимодействовать с белком Pgp (продуктом гена *MDR1*) показало, что добавление NM-3R не изменяло динамику выброса родамина 123 из клеток.

Таким образом, NM-3R не является субстратом этого белка, не способно взаимодействовать с Pgp и поэтому действует с одинаковой эффективностью на родительские и устойчивые клетки.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 16-13-10245.*

## Ядерный рецептор NR4A3 вызывает устойчивость клеток рака молочной железы к доксорубину и цисплатину

О.А. Федорова<sup>1</sup>, Т.С. Леонова<sup>1,2</sup>, А.А. Дакс<sup>1</sup>, О.Ю. Шувалов<sup>1</sup>,  
Е.А. Васильева<sup>1</sup>, А.В. Петухов<sup>1,3</sup>, Н.А. Барлев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»;

<sup>3</sup>ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Доксорубин, являющийся антрациклиновым антибиотиком, на данный момент входит в большинство стандартных схем ХТ РМЖ. Доксорубин действует как интеркалирующий агент, ингибируя ДНК топоизомеразу II и вызывая двухцепочечные разрывы ДНК, что, в свою очередь, приводит к гибели клеток. Кроме доксорубина используют также цитотоксический препарат цисплатин для лечения РМЖ. Однако раковые клетки зачастую приобретают резистентность как к доксорубину, так и к цисплатину, что приводит к неэффективности лечения.

Выявление новых биомаркеров, свидетельствующих о резистентности, является важной задачей современной молекулярной онкологии. Члены семейства ядерных рецепторов (NR4A1, NR4A2, NR4A3) являются ДНК-связывающими транскрипционными факторами, которые играют роль в ключевых биологических процессах, таких как эмбриональное развитие, клеточный метаболизм, воспаление, пролиферация, миграция клеток и апоптоз. Показано, что усиление экспрессии NR4A2 в клеточной линии РМЖ MCF7 приводит к снижению экспрессии проапоптотического гена *BAX* после обработки доксорубином, что, в свою очередь, приводит к подавлению апоптоза. Кроме того, для NR4A1 также показана зависимость экспрессии и развитие резистентности в случае РМЖ.

Для исследования влияния NR4A3 на чувствительность клеток РМЖ к доксорубину в данной работе была использована клеточная линия РМЖ MDA-MB-231 с различным статусом экспрессии NR4A3 (MDA-MB-231 с оверэкспрессией NR4A3 и MDA-MB-231 с подавленной экспрессией NR4A3). Значение концентрации, вызывающее 50 % ингибирование роста популяции клеток ( $IC_{50}$ ), после обработки доксорубином или цисплатином для клеточной линии MDA-MB-231 с оверэкспрессией NR4A3 были значительно ниже, чем у контрольных клеток. Анализ вестерн-блот и ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени показали, что профиль экспрессии проапоптотических генов, таких как *PUMA* и *BAX*, был ниже в клеточной линии с оверэкспрессией NR4A3 по сравнению с контрольной клеточной линией после обработки доксорубином. Кроме того, сравнение уровня апоптоза на

основании окраски актителами к аннексину V в клеточной линии MDA-MB-231 с оверэкспрессией NR4A3 и контрольной после обработки доксорубином или цисплатином показало заметное снижение числа апоптотических клеток. Обобщая полученные данные, можно сделать вывод, что NR4A3 опосредует устойчивость к доксорубину в клеточной линии РМЖ MDA-MB-231.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проекты 16-34-60228 мол\_а\_дк и 16-34-00869 мол\_а).*

## Апконвертирующие наноконструкции для визуализации и фотодинамической терапии солидных опухолей инфракрасным излучением

Н.В. Шолина<sup>1,2</sup>, П.А. Демина<sup>3,4</sup>, А.Н. Генералова<sup>3,5</sup>,  
Д.А. Хоченков<sup>1</sup>, А.В. Нечаев<sup>3,4</sup>, Е.В. Хайдуков<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГАУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва;

<sup>3</sup>ФГУ «ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, Москва;

<sup>4</sup>ФГБОУ ВО «МТУ ИТХТ им. М.В. Ломоносова», Москва;

<sup>5</sup>ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академикова М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва

Разработка новых эффективных методов и подходов для диагностики и терапии злокачественных новообразований — одна из наиболее актуальных и активно развивающихся областей медицины. Наноразмерные апконвертирующие фосфоры (НАФ) — отдельный класс люминесцентных наночастиц, представляющих собой неорганические нанокристаллы ( $NaYF_4$ ), легированные ионами лантаноидов (например иттербий, эрбий или тулий), что придает им свойство апконверсии — преобразования низкоэнергетических фотонов в фотоны с более высокой энергией, в частности, возбуждаясь ближним инфракрасным излучением, данные наночастицы генерируют в ответ свет ультрафиолетового (УФ) и видимого спектра. Еще одной особенностью НАФ является их специфическое накопление через патологические сосуды опухоли и их длительное удержание в патологическом очаге, связанное с отсутствием лимфатического дренажа. Это делает их перспективной платформой для создания новых агентов для фотодинамической терапии (ФДТ). ФДТ является чрезвычайно эффективной методикой при условии, что существует возможность фотоактивации молекул сенсibilизатора во всем массиве опухолевой ткани.

Рибофлавин (Рф, витамин В<sub>2</sub>) является эндогенным фотосенсibilизатором, ограничение его применения

обусловлено лишь его активацией УФ-светом, который проникает в толщину кожи только на несколько миллиметров. Уникальные оптические свойства НАФ позволяют реализовать инновационный метод глубокой ФДТ под действием инфракрасного излучения при участии Рф в качестве фотосенсибилизатора. Фототоксическое действие Рф происходит преимущественно посредством фотогенерации активных форм кислорода и, как следствие, запуска клеточной гибели по пути апоптоза.

В данной работе продемонстрирована специфическая доставка синтезированных наноконструкций (НАФ/Рф) в опухоль на модели ксенографта аденокарциномы молочной железы человека (SK-BR-3) и последующий сеанс ФДТ. НАФ обеспечили преобразование квантов ближнего инфракрасного диапазона, находящегося в оптическом «окне прозрачности» биоткани, в УФ-кванты возбуждения Рф. Такая конструкция позволила эффективно наработать активные формы кислорода в опухоли, что привело к разрушению опухолевых клеток. При однократном воздействии наблюдалось торможение роста опухоли и уменьшение ее объема на 90 % в течение 50 дней.

### **Исследование комбинированного действия ингибиторов сигнального каскада онкогена K-RAS на модели зебрафиш**

**М.Н. Юрова, И.В. Мизгирев**

*ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова»  
Минздрава России, Санкт-Петербург*

Более 30 % злокачественных опухолей человека имеют мутации в генах семейства RAS и, как правило, плохо поддаются лечению современными цитотоксическими препаратами. Поэтому применение соединений, потенциально способных блокировать функцио-

нирование сигнального каскада онкогена K-RAS, является одним из перспективных направлений современной онкофармакологии.

**Целью исследования** стало изучение эффектов комбинированного действия рапамицина (RAP) и паклитаксела (PAC) на трансгенной линии зебрафиш (*D. rerio*), характеризующейся постоянной экспрессией в клетках эпидермиса онкогена *K-RAS (V12)*, конъюгированного с зеленым флуоресцентным белком (GFP). Эта линия имеет измененный фенотип, обусловленный гиперплазией кератиноцитов и флуоресценцией в них GFP-репортера. Эмбрионы рыб в возрасте 6 ч помещались в среду с добавлением 0,125 % раствора диметилсульфоксида (контроль) и различных доз исследуемых препаратов или их комбинаций. Инкубация составляла 72 ч, после чего проводилась количественная оценка интенсивности флуоресценции GFP-репортера в клетках эпидермиса с помощью компьютерной морфометрии. При воздействии RAP выраженность фенотипических изменений уменьшалась вплоть до полной нормализации фенотипа в дозах 50–400 нмоль. PAC в дозах 50–250 нмоль не оказывал токсического влияния на развитие эмбрионов, однако дозозависимо повышал уровень флуоресценции репортера, что свидетельствует об усилении экспрессии онкогена *K-RAS*. Воздействие низких доз RAP (10 и 25 нмоль), а также PAC (10 нмоль) по отдельности не оказывало статистически значимого влияния на выраженность трансформированного фенотипа. В то же время использование различных комбинаций низких доз этих препаратов (RAP 10 или 25 нмоль в сочетании с PAC 10 нмоль или 50 нмоль) существенно снижало регистрируемый уровень флуоресценции, полностью нормализуя фенотип трансгенных рыб.

Таким образом, выявлено взаимное потенцирующее действие низких доз RAP и PAC, приводящее к избирательному ингибированию сигнального каскада K-RAS онкогена, что свидетельствует о перспективности дальнейших исследований комбинации этих препаратов для таргетной терапии опухолей.

## Постеры

### Влияние модулятора метаболизма TX-14 на метаболомный профиль и активность комплексов дыхательной цепи митохондрий опухолевых клеток MCF-7

Г.Д. Алекбаева, А.Х. Сабиров, М.В. Пугачев,  
А.Г. Иксанова, Ю.Г. Штырлин

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»,

Научно-образовательный центр фармацевтики, Казань

Альтернативой соматической мутационной теории возникновения рака на современном этапе является гипотеза возникновения заболевания ввиду нарушения митохондриального метаболизма. Основная гипотеза метаболического перепрограммирования опухолевых клеток заключается в постепенном возврате от аэробного гликолиза к окислительному фосфорилированию.

В настоящем исследовании проведена оценка биологических эффектов модулятора метаболизма TX-14 на метаболомный профиль и митохондрии клеток РМЖ человека (MCF-7).

Исследования показали, что в ходе непрерывной инкубации опухолевых клеток с TX-14 происходит ингибирование гликолиза и образования промежуточного метаболита пентозофосфатного пути седогептулозо-7-фосфата, в то же время наблюдается увеличение интенсивности цикла трикарбоновых кислот, начиная с 35-х суток инкубации. Выявлено, что TX-14 достоверно снижает внутриклеточный уровень АФК на 25 % и постепенно увеличивает митохондриальный потенциал в клетках MCF-7 на 170 % к 49-м суткам инкубации. Кроме того, установлено, что TX-14 достоверно увеличивает количество митохондрий в клетках MCF-7. При этом TX-14 ингибирует I комплекс дыхательной цепи с 21-го дня инкубации на 67 %, активирует II и IV комплексы дыхательной цепи с 7-го и 21-го дня инкубации в 2 и 100 раз соответственно, при этом не вызывая достоверных изменений в активности III комплекса дыхательной цепи.

На основе проведенных исследований можно сделать вывод, что TX-14 способен вызывать ряд последовательных изменений в опухолевых клетках MCF-7. А именно способствовать одновременному снижению уровня АФК и увеличению митохондриального потенциала с последующим запуском процессов ингибирования интенсивности гликолиза, активации цикла трикарбоновых кислот и дыхательной цепи митохондрий. Несомненно, TX-14 представляет интерес при разработке модуляторов метаболизма опухолевых клеток.

### Исследование биологической активности новых производных брассиностероидов

О.Е. Андреева<sup>1</sup>, Т.С. Далидович<sup>2</sup>,  
Д.С. Щербинин<sup>3,4</sup>, В.Н. Жабинский<sup>2</sup>, В.А. Хрипач<sup>2</sup>,  
А.М. Щербаков<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск,  
Республика Беларусь;

<sup>3</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт  
биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича», Москва;

<sup>4</sup>Сколковский институт науки и технологий,  
Московская область

Брассиностероиды (BS) – стероидные гормоны растений, которые играют важную роль в различных физиологических процессах, в том числе в регуляции роста, дифференциации, развития корня и стебля, устойчивости к болезням, стрессу и др. (V.A. Khrpach et al., 1999). В последние годы показано, что BS представляют собой класс соединений с потенциальной противоопухолевой активностью (P.A. Kisselev et al., 2017).

**Цель исследования** – провести синтез новой серии аналогов BS, содержащих D<sup>2</sup>-связь в цикле А, и проанализировать их действие на клетки РМЖ.

Выполнен синтез 6 новых аналогов секастерина BS2–BS7, отличающихся строением цикла В и боковой цепи. Оценка цитотоксической активности на клетках РМЖ линий MCF-7 (ER $\alpha$ +) и MDA-MB231 (ER $\alpha$ -) показала, что соединения с холестановым или эргостаном скелетом боковой цепи подавляли рост гормонозависимых и гормононезависимых клеток с IC<sub>50</sub> от 12,7 до 23,6 мкмоль. Анализ «структура–активность» свидетельствует о более высокой активности соединений с метильным заместителем при C-24 (BS2 и BS4), при этом его дальнейшее увеличение (переход к соединениям стигмастанового ряда) снижает противоопухолевую цитотоксичность. Учитывая способность BS эффективно ингибировать рост гормонозависимого РМЖ, рецептор эстрогенов проанализировали в качестве потенциальной мишени полученных соединений. В цитотоксических концентрациях BS2 и BS4 снижали на 40–50 % активность рецептора эстрогенов (ЭР $\alpha$ ), индуцированную 17 $\beta$ -эстрадиолом. Связывание BS2 и BS4 с рецептором эстрогенов было изучено при помощи методов молекулярного докинга.

Таким образом, полученные BS представляют собой перспективные противоопухолевые агенты,

ингибирующие ЭР-α – ключевой «драйвер» пролиферации клеток гормонозависимого РМЖ.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проект № 17-54-04054 Бел\_мол\_а) и БРФФИ (проект № X17PM-040).*

## Разработка технологии синтеза пептидных лигандов для радионуклидной диагностики нейроэндокринных опухолей

А. Н. Балаев<sup>1</sup>, Д. С. Хачатран<sup>2</sup>, Е. А. Ручко<sup>1</sup>,  
В. Н. Осипов<sup>1, 2, 3</sup>

<sup>1</sup>АО «Фарм-Синтез», Москва;

<sup>2</sup>НИЦ «Курчатовский институт», ФГУП «ИРЕА», Москва;

<sup>3</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** Клетки нейроэндокринных опухолей на своей поверхности содержат рецепторы некоторых специфических пептидов, в том числе природного гормона соматостатина. В настоящее время для ПЭТ-визуализации рецепторов соматостатина нейроэндокринных опухолей все более широкое применение находят лиганды на основе модифицированной молекулы октреотида (синтетического пептидного аналога соматостатина): DOTA-TATE (DOTA-Тур<sup>3</sup>-октреотат), DOTA-TOC (DOTA-Тур<sup>3</sup>-октреотид) и DOTA-NOC (DOTA-Nal<sup>3</sup>-октреотид). В качестве ПЭТ радионуклидов обычно используют <sup>68</sup>Ga и <sup>64</sup>Cu.

**Задачи исследования.** Разработка технологии синтеза DOTA-TATE, DOTA-TOC и DOTA-NOC. Данные лиганды в нашей стране не производятся, поэтому наиболее перспективная область ранней диагностики нейроэндокринных опухолей полностью зависит от импорта этих дорогостоящих препаратов из-за рубежа.

**Материалы и методы.** Для синтеза пептидной составляющей лиганда применяли комбинированный метод твердофазного и жидкофазного способа получения пептидов и последующую очистку целевого препарата с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

**Результаты.** Разработана эффективная технология синтеза лигандов для ПЭТ-визуализации рецепторов соматостатина, включающая твердофазный синтез линейных пептидов с использованием Fmoc-защищенных аминокислот, окислительную циклизацию снятых со смолы пептидов, конъюгирование с Вос-защищенной DOTA и последующее удаление защитных групп. После хроматографической очистки получают целевые соединения с чистотой >98 %. Все стадии процесса, включая очистку технических пептидов на ВЭЖХ, оптимизированы для дальнейшего масштабирования. Отдельно решена задача получения Вос-защищенной DOTA без выделения промежуточных продуктов.

**Выводы.** Разработан оптимизированный метод синтеза DOTA-TATE, DOTA-TOC и DOTA-NOC. Технология производства позволяет легко масштабировать процесс до объемов годовой потребности России в этих препаратах.

## 1,4-диоксиды 3-арилхиноксалин-2-карбонитрилов: роль заместителей в гипоксической цитотоксичности

А. М. Борунов<sup>1, 2</sup>, Г. И. Буравченко<sup>1, 2</sup>, О. Е. Андреева<sup>3</sup>,  
А. М. Щербаков<sup>3</sup>, А. Е. Щекотихин<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИНА им. Г. Ф. Гаузе», Москва;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева», Москва;

<sup>3</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

Недавно показан высокий противоопухолевой потенциал 1,4-диоксида 6,7-дифторохиноксалин-2-карбонитрила в отношении опухолевых клеточных линий человека, в том числе характеризующихся множественной лекарственной устойчивостью (А. Е. Shchekotikhin et al., 2015). Таким образом, перспективной задачей является изучение влияния заместителей в хиноксалиновом ядре на антипролиферативные свойства.

Целью работы являлся синтез серии 1,4-диоксидов 3-арил/гетарилхиноксалин-2-карбонитрилов, изучение их противоопухолевых свойств и выявление связи «структура–активность».

Для достижения поставленной цели была синтезирована серия новых производных 1,4-диоксида хиноксалин-2-карбонитрила, отличающихся заместителями в положениях 3, 6 и 7. Также изучены антипролиферативные свойства полученных соединений на культурах клеток аденокарциномы молочной железы MCF-7 и MDA-MB-231 как в условиях нормоксии, так и в гипоксических условиях.

Антипролиферативная активность всех синтезированных соединений в 3–40 раз превосходит препарат сравнения тирапазамин, причем некоторые производные показали большую цитотоксичность в отношении опухолевых клеток в условии гипоксии. Выявлено, что антипролиферативная активность и гипоксическая цитотоксичность находятся в сильной зависимости от характера заместителей в положениях 6 и 7 хиноксалинового ядра. Так, введение в эти положения атома хлора приводит к повышению изучаемой активности. Также введение заместителей в бензольное кольцо в положении 3 хиноксалина приводит к росту цитотоксичности таких производных, однако снижает их индекс гипоксической селективности. Кроме того, хотя 6,7-дигалогенозамещенные соединения обладают большей цитотоксичностью в отношении исследуемых клеточных линий, монозамещенные производные в целом обладают большей гипоксической селективностью.

Учитывая высокую цитотоксическую активность синтезированных соединений в гипоксии, гипоксияиндуцируемый фактор 1 $\alpha$  (HIF1 $\alpha$ ) рассмотрен в качестве их потенциальной мишени. Соединения-лидеры вызывали 50 % ингибирование HIF1 $\alpha$ , активированного гипоксией (атмосфера с 1 % O<sub>2</sub>, 24 ч инкубации). Препарат сравнения (тирапазамин) уступал синтезированным соединениям по способности блокировать HIF1 $\alpha$ .

Таким образом, получена серия новых галогенопроизводных 1,4-диоксида 3-арил-хиноксалин-2-карбонитрила, эффективно ингибирующих основной сигнальный путь гипоксии (HIF1 $\alpha$ ).

*Биологические эксперименты выполнены при поддержке РФФ (проект № 14-15-00362).*

## Новые антрафуранкарбоксамиды: различия механизмов цитотоксичности при сходстве структуры

Ю.Л. Володина<sup>1</sup>, Л.Г. Деженкова<sup>2</sup>, А.С. Тихомиров<sup>2</sup>, Д.Н. Калужный<sup>3</sup>, А.Е. Щекотихин<sup>2</sup>, А.А. Штиль<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБНУ «НИИНА им. Г.Ф. Гаузе», Москва;

<sup>3</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

Производные антрахинона – перспективный класс для разработки современных противоопухолевых препаратов. Ранее получен ряд антрафуран-3-карбоксамидов, ингибирующих пролиферацию и вызывающих гибель опухолевых клеток, включая резистентные линии с нефункционирующим p53 или гиперэкспрессией Р-гликопротеина (А.Е. Shchekotikhin et al., 2016). Среди соединений новой серии особый интерес представляют антрафуран-3-карбоксамид ЛХТА-2181 и стереоизомеры антрафуран-2-карбоксамидов ЛХТА-2277 и ЛХТА-2278, содержащие амидный фрагмент в положениях 3 и 2 соответственно. Данные соединения близки по строению, но их биологические свойства – цитотоксичность, влияние на клеточный цикл, способность ингибировать топоизомеразу I (топо I) и связываться с двухцепочечной ДНК – значительно различаются. Эти различия в основном зависят от положения карбоксамидного заместителя, а не его стереохимии. ЛХТА-2277 и ЛХТА-2278 высокотоксичны для суспензионных культур опухолевых клеток: в микромолярных и субмикромолярных концентрациях эти соединения вызывают гибель клеток лейкозов разного гистогенеза, а также клеток асцитной карциномы Эрлиха. В то же время 75–80 % клеток культур солидных опухолей разного видового и тканевого происхождения устойчивы к ЛХТА-2277 и ЛХТА-2278. Напротив, ЛХТА-2181 активен на всех исследованных линиях. Все 3 вещества

вызывают нарушения клеточного цикла и апоптоз. Однако при действии ЛХТА-2181 апоптозу предшествуют нарушения в фазах S и G2, а в случае стереоизомеров ЛХТА-2277 и ЛХТА-2278 – в фазе G1. Предполагаемые клеточные мишени этих соединений – двухцепочечная ДНК и топоI. Однако ЛХТА-2277 и ЛХТА-2278 менее афинны к двухцепочечной ДНК, чем ЛХТА-2181. ЛХТА-2277 и ЛХТА-2278 ингибируют топо I в концентрациях 0,5–10 мкмоль, тогда как ЛХТА-2181 практически не вызывает изменений активности топо I в данном диапазоне концентраций. Новые данные о связи «структура–активность» в ряду карбоксамидов антрафуранов будут использованы для дальнейшей оптимизации лекарственных кандидатов.

## Действие наночастиц нитрида бора, конъюгированных с доксорубицином, на опухолевые клетки с множественной лекарственной устойчивостью

И.Н. Бычков<sup>1</sup>, И.Ю. Житняк<sup>1</sup>, И.В. Сухорукова<sup>2</sup>, Д.В. Штанский<sup>2</sup>, Н.А. Глушанкова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>НИТУ «МИСиС», Москва

Использование наноносителей может решить одну из важнейших проблем при лечении онкологических заболеваний – множественную лекарственную устойчивость (МЛУ) неопластических клеток. Нанотранспортеры на основе гексагонального нитрида бора являются одной из новейших и наиболее перспективных систем доставки химиопрепаратов в опухолевые клетки. Недавние исследования показали, что наночастицы из гексагонального нитрида бора (BNNPs) способны связывать доксорубин (DOX) при щелочных pH и высвобождать его при кислых pH. DOX-BNNPs проникают в клетки путем эндоцитоза, DOX высвобождается в кислой среде лизосом, переходит в цитоплазму и ядро, где связывается с ДНК и вызывает гибель клетки.

Целью работы было исследование воздействия наночастиц гексагонального нитрида бора, конъюгированных с DOX, на линии опухолевых клеток, отличающихся по свойству МЛУ.

Объектом исследования были BNNPs с развитой поверхностью размером 100–150 нм. В работе использовали клеточные линии карциномы шейки матки человека: KB-3–1 и ее производной – KB-8–5, устойчивой к DOX, а также клетки линии хронической миелоидной лейкемии: K562 и ее производной – IS-9 с МЛУ. Для оценки цитотоксичности препарата применяли ММТ-тест и методы подсчета клеток (флуоресцентная микроскопия и проточная цитометрия).

Динамику накопления DOX в ядре и цитоплазме клеток оценивали с помощью флуоресцентной микроскопии.

**Результаты.** Максимальная нагрузка BNNPs доксорубицином (180–200 мкг/мг) была достигнута после насыщения в щелочном буфере при pH 8,4. Наноконъюгаты DOX-BNNPs проникали как в чувствительные клетки, так и в клетки, обладающие МЛУ, используя эндоцитозный путь, и аккумулировались в перинуклеарной области между пучками актина. Данные цитотоксических тестов показали, что значение  $IC_{50}$  (DOX) для клеток линии KB-8–5 в 5,5 раза выше, чем у клеток линии KB-3–1, а  $IC_{50}$  (DOX-BNNPs) для клеток линии KB-8–5 выше в 4 раза. Анализ выживаемости клеток линий K562 и IS-9 показал гораздо большую чувствительность этих линий к DOX-BNNPs по сравнению с исследованными линиями карцином. Получены значения  $IC_{50}$  (DOX-BNNPs) 1,13; 4,68; 0,025 и 0,14 мкг/мл для клеточных линий KB-3–1, KB-8–5 (МЛУ), K562 и i-S9 (МЛУ) соответственно. Изучение динамики накопления DOX в ядре и в цитоплазме клеток, обработанных DOX и DOX-BNNPs в концентрациях, соответствующих  $IC_{50}$ , показало, что в случае наноконъюгатов DOX-BNNPs проникновение DOX в цитоплазму клеток позволило поддерживать высокий и стабильный уровень DOX в ядрах клеток с МЛУ KB-8–5.

Полученные результаты являются многообещающими для дальнейшего развития систем доставки химиопрепаратов на основе наночастиц нитрида бора и их применения для лечения опухолевых заболеваний, в частности лейкемии.

## Молекулярные механизмы ингибирования онкогена *c-Мус* оливомицином А

А.К. Исагулиева<sup>1</sup>, В.В. Татарский<sup>1</sup>,  
Н.В. Сошникова<sup>2</sup>, А.А. Штиль<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва

Оливомицин А (I) — антибиотик группы ауреоловой кислоты. Общезорбтивная токсичность ограничивает его практическое применение, однако высокая цитотоксичность в культуре опухолевых клеток служит обоснованием поиска аналогов (A.N. Tevyashova et al., 2013; Цветков В.Б. и др., 2015) и изучения механизмов действия I. В настоящей работе исследованы молекулярные механизмы ингибирования I гена *c-Мус*, кодирующего онкобелок Мус. Ингибирование *c-Мус* и других генов достигается при действии наномолярных концентраций I. Соединение связывается с GC-богатыми участками ДНК; в регуляторной области *c-Мус* выявлена область связывания транскрипционных факторов NFAT и Sp1 — возможный сайт взаимодействия I с ДНК.

Однако GC-богатые участки имеются вне регуляторных районов генов, что затрудняет интерпретацию механизма подавления транскрипции. Для изучения отдельных GC-богатых сайтов использовали сконструированный вектор TRE-CMV-*c-Мус*, в котором экзогенный *c-Мус* активируется индуцибельным Tet-On промотором в контексте Tet-респонсивного элемента; сайт связывания NFAT и Sp1 в векторе отсутствует. Эту конструкцию вводили в клетки аденокарциномы толстой кишки HCT116 и исследовали способность I ингибировать эндогенный и экзогенный ген *C-МУС*. В культуру клеток вносили I (100 нмоль), экспрессию экзогенного *C-МУС* активировали доксициклином.

Установлено, что I подавлял экспрессию как эндогенного, так и экзогенного *C-МУС*, что указывает на аффинность I не только к участку связывания NFAT и Sp1, но и к другим GC-богатым областям в генетической конструкции. Такие участки отсутствуют в Tet-респонсивном элементе, но имеются в промоторе цитомегаловируса. Эти участки будут подвергнуты направленному мутагенезу для выяснения роли отдельных последовательностей ДНК в антитранскрипционном эффекте I.

## Функциональный анализ генов-кандидатов, необходимых для выживания злокачественной меланомы кожи

И. Кривошеева<sup>1</sup>, А. Филатова<sup>1</sup>,  
С. Мошковский<sup>2</sup>, М. Скоблов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБНГУ «Медико-генетический научный центр», Москва;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича», Москва

Цель генетического анализа опухолевых клеток — выявление драйверных и «пассажирских» мутаций, определяющих как саму трансформацию клеток, так и влияние на такие жизненно важные процессы, как пролиферация, дифференцировка, подвижность и т. д. Эта действительно важная информация необходима как для понимания механизмов канцерогенеза, так и для определения возможной терапии.

Однако не все гены приобретают мутации при опухолевых заболеваниях. Так было показано, что при анализе большого количества образцов меланомы найдены гены, которые не подвержены мутагенезу (Pyatnitskiy et al., 2015). Проведенный биоинформатический анализ позволил выявить 91 такой «гипомутированный» ген. Возникло предположение, что эти гены необходимы клеткам для выживания и размножения и, следовательно, являются зонами уязвимости для них. Клетки, имеющие мутации в таких генах, возможно, быстро погибают, поэтому они могут служить подходящими мишенями для терапии меланомы. Задача

данной работы – экспериментальное исследование данной теории.

Для выбора кандидатных генов для последующих экспериментов для 91 «гипомутированного» гена был проведен анализ литературы, а также экспрессионный анализ. В результате отобрано 3 наиболее перспективных гена-кандидата: *UNC45A*, *RHPN2* и *ZNFХ1*.

Для выбранных генов проведены эксперименты по нокдауну с целью исследования изменения пролиферации, жизнеспособности и апоптоза клеток меланомы человека. Результаты исследований эффекта нокдауна показали, что, несмотря на то что каспазная активность в клетках повышается, скорость пролиферации и жизнеспособность клеток изменяются статистически незначимо. Это может объясняться несколькими причинами: наличием компенсирующих или дублирующих систем в клетке, взаимосвязью выбранных генов с иммунной системой организма человека, более продолжительным временем жизни продуктов выбранных генов. Дальнейшая работа будет направлена на измерение скорости миграции клеток при подавлении экспрессии выбранных генов и увеличение списка исследуемых генов.

## Получение аптамеров к ДНК-полимеразе ЭТА человека

А. В. Макарова, К. А. Козырева

ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Москва

Действие многих современных химиотерапевтических препаратов основано на блокировании репликации быстро делящихся опухолевых клеток с помощью повреждения ДНК. ДНК-полимераза эта (Pol eta) осуществляет эффективную репликацию ДНК, содержащей многие типы повреждений, и является перспективной мишенью для создания препаратов для борьбы с химиотерапевтической резистентностью. Подавление активности Pol eta в опухолевых клетках значительно повышает их чувствительность к распространенному препарату химиотерапии – цисплатину.

Одним из перспективных типов ингибиторов активности биологических молекул являются аптамеры – небольшие олигонуклеотидные молекулы нуклеиновых кислот, образующие прочные комплексы с молекулами-мишенями и отобранные из библиотек случайных последовательностей ДНК или РНК. Аптамеры часто связываются в функционально важных участках молекулы и являются ингибиторами активности белков-мишеней. По своей специфичности и высокой аффинности аптамеры не уступают антителам, но обладают низкой иммуногенностью и хорошей способностью проникать через биологические мембраны.

С помощью систематической эволюции лигандов экспоненциальным обогащением (SELEX, Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment) были

получены ДНК-аптамеры к Pol eta человека. После 12 циклов отбора из библиотеки со случайной последовательностью ДНК аптамеры были клонированы в вектор pGEM-T. Для 10 клонов определена нуклеотидная последовательность. Для всех ДНК-аптамеров характерна структура G-квадруплекса. Проведено тестирование ингибирования активности Pol eta человека полученными ДНК-аптамерами *in vitro*. Ингибирующее действие обнаружено для 4 аптамеров. Два аптамера умеренно ингибировали активность Pol eta в концентрациях, эквивалентных Pol eta.

*Работа поддержана Стипендией Президента РФ для молодых ученых и аспирантов (Макарова А. В.) и грантом Правительства Москвы и РФФИ (15-34-70002 мол-а-мос). Авторы выражают благодарность А. В. Кульбачинскому за ценные методические рекомендации и предоставление библиотеки для отбора аптамеров.*

## Разработка модельной системы рака молочной железы *in vitro* для исследования противоопухолевых свойств селективных агонистов глюкокортикоидного рецептора

Н. В. Машкова<sup>1, 2</sup>, Е. М. Жидкова<sup>1</sup>, Л. Р. Тилова<sup>1</sup>, А. В. Савинкова<sup>1</sup>, К. А. Кузин<sup>1</sup>, В. П. Максимова<sup>1</sup>, Т. И. Фетисов<sup>1</sup>, К. И. Кирсанов<sup>1</sup>, М. Г. Якубовская<sup>1</sup>, Е. А. Лесовая<sup>1, 3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБУ ВО «Московский политехнический университет»;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, Рязань

**Введение.** Глюкокортикоиды (GC) применяются в качестве адъювантов в терапии РМЖ. Однако длительное применение GC ведет к развитию побочных эффектов, связанных с трансактивацией GR. GC могут способствовать развитию резистентности, прогрессии и метастазированию РМЖ. Ранее нами показано, что соединение класса селективных агонистов глюкокортикоидного рецептора (SEGRA), SpdA, проявляет GR-зависимый антипролиферативный эффект на моделях гемобластозов, не запуская трансактивацию.

**Задачей данной работы** являлось создание модельной системы РМЖ для изучения противоопухолевых эффектов SpdA *in vitro*.

**Материалы и методы.** В работе использованы 4 клеточные линии аденокарциномы молочной железы различных молекулярных подтипов: MCF-7, MDA-MB-231, HBL-100, MDA-MB-453. Оценка экспрессии GR проведена с помощью вестерн-блоттинга, определение мутаций в гене GR проведено с помощью

секвенирования, цитотоксический эффект лигандов GR изучали с помощью прямого подсчета клеток, подавление экспрессии GR проводили с помощью трансдукции в клетки лентивирусных конструкций, экспрессирующих короткую шпилечную РНК к гену GR.

**Результаты.** Показано, что все клеточные линии экспрессируют GR, не несущий в себе мутаций. Для всех исследуемых клеточных линий наблюдали цитотоксический эффект после обработки клеток лигандами GR. Для сублиний клеток с подавленной экспрессией GR цитотоксический эффект выражен гораздо слабее, что подтверждает зависимость наблюдаемых эффектов от уровня экспрессии рецептора в клетке.

**Заключение.** Нами разработана модельная система аденокарциномы молочной железы в виде панели клеточных линий, охарактеризованных по экспрессии и функциональной активности GR, для изучения GR-опосредованных противоопухолевых эффектов SEGRA.

*Работа поддержана грантами РФФИ № 15-04-04006 и 16-04-01410, грантом РНФ № 17-75-20124*

## Чувствительность опухолевых клеточных линий к терапии цисплатином в комбинации с ингибитором 6-фосфоглюконатдегидрогеназы

Л.Ф. Минигулова<sup>1</sup>, Д.М. Савенкова<sup>1,2</sup>, К.В. Гавриш<sup>2</sup>, В.С. Скрипова<sup>1</sup>, И.Г. Серебрянский<sup>2</sup>, Р.Г. Киямова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»;

<sup>2</sup>Центр исследований рака «Fox Chase», Филадельфия, США

Цисплатин — противоопухолевый препарат, действие которого основано на образовании внутри- и межмолекулярных сшивок в ДНК, что приводит к нарушению процессов репликации и транскрипции и, как следствие, к задержке клеточного цикла и апоптозу.

Несмотря на достаточно широкое использование цисплатина в ХТ, в настоящее время существует проблема возникновения устойчивости опухолевых клеток к препаратам платины. Поэтому поиск новых генов-мишеней, продукты которых могут участвовать в регуляции чувствительности к действию цисплатина, является актуальной задачей для терапии онкологических заболеваний.

Для поиска таких генов-мишеней используют разнообразные подходы, включая биоинформатический анализ, технологию CRISPR/Cas9, нокдаун генов с помощью siRNA и другие методы. Ранее в нашей лаборатории с помощью биоинформатического анализа показано, что снижение экспрессии гена 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (PGD) может влиять на чувствительность опухолевых клеток к цисплатину

(Garonova et al., 2017). В связи с этим был выбран подход по ингибированию активности продукта гена PGD, 6-фосфоглюконатдегидрогеназы, с помощью селективного ингибитора Physcion на чувствительность опухолевых клеточных линий к цисплатину.

Для этого клетки плоскоклеточной карциномы головы и шеи и рака поджелудочной железы AsPC-1 инкубировали с цисплатином в диапазоне концентраций от 1 до 128 мкмоль в условиях с и без добавления ингибитора Physcion (10 и 25 мкмоль). Согласно полученным данным построены кривые жизнеспособности в программе GraphPad Prism и определены значения IC<sub>50</sub>. Уровень статистической значимости между IC<sub>50</sub> определяли с помощью критерия Фишера. Статистически значимыми признавались значения  $p < 0,05$ .

В результате проведенных исследований показано, что добавление Physcion (10 и 25 мкмоль) повышает чувствительность клеточной линии SCC61 на 18 и 13 % соответственно. Ингибитор Physcion (10 мкмоль) повышает чувствительность опухолевой клеточной линии AsPC-1 на 30 %.

Таким образом, ингибирование 6PGD увеличивает чувствительность опухолевых клеточных линий SCC61 и AsPC-1 к цисплатину. Дальнейшее изучение механизма наблюдаемого эффекта может быть полезно при разработке новых сенситизирующих противоопухолевых препаратов.

## Тест-система для идентификации ингибиторов активности фактора теплового шока 1

А.Д. Никитина<sup>1</sup>, Л.В. Колударова<sup>1</sup>, Р.В. Суезов<sup>1,2</sup>, Б.А. Маргулис<sup>1</sup>, И.В. Гужова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)»

**Введение.** Раковые клетки находятся в условиях постоянного стресса. Для защиты от этих условий раковая клетка использует систему, основанную на белках теплового шока (HSPs), которые обильно синтезируются во многих типах опухолей и позволяют выживать в неблагоприятных условиях, в том числе и при действии противоопухолевых препаратов. Основную роль в процессе защиты клеток выполняет HSP70, который, как показано ранее, может связываться с проапоптотическими белками и предотвращать клеточную гибель. Синтез HSP70 контролируется транскрипционным фактором HSF1. Таким образом, использование комбинационной терапии, основанной на малых молекулах, ингибирующих работу HSF1 в паре с противоопухолевыми препаратами, представляется перспективным направлением терапии рака.

**Задачи исследования.** Разработка системы скрининга малых молекул, способных ингибировать работу HSF1.

**Материалы и методы.** В наше распоряжение поступила коллекция из 1000 веществ компании InterBio-Screen. Первый этап скрининга был проведен с использованием люциферазной репортерной системы. Второй включал LDH тест на цитотоксичность (Promega, США). Контроль работы ингибиторов проводили с помощью метода иммуноблоттинга на разных клеточных линиях.

**Результаты.** После первого раунда скрининга мы обнаружили соединение (CL-158), способное ингибировать работу HSF1. Оно демонстрировало низкую собственную токсичность. Мы также показали, что обработка клеток этим веществом способна снижать количество HSP70 в раковых клетках. Однако, несмотря на эти результаты, мы обнаружили, что CL-158 является нестабильным и может диссоциировать с образованием неактивных форм. Поэтому далее мы приступили к поиску стабильных аналогов CL-158. Мы обнаружили 3 соединения, но только одно – CL-43 – демонстрировало наибольшую эффективность в подавлении активности HSF1.

**Выводы.** Нам удалось разработать тест-систему для поиска эффективных и нетоксичных ингибиторов активности HSF1. С помощью этой тест-системы мы обнаружили стабильное соединение, которое подавляет активность HSF1 в раковых клетках различного происхождения.

## Роль C23/B23 в индукции гибели опухолевых клеток катионными пептидами

Д.А. Понкратова<sup>1</sup>, А.А. Рудакова<sup>1</sup>, Л.Ф. Морозова<sup>1</sup>, С.М. Андреев<sup>2</sup>, Е.Ю. Рыбалкина<sup>1</sup>, А.А. Лушникова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБГУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва

**Введение.** Шаперонные белки – нуклеолин, C23 и нуклеофозмин/B23 – участвуют в важнейших клеточных процессах, уровень их экспрессии в большинстве солидных опухолей выше, чем в нормальных клетках. Это позволяет рассматривать C23/B23 как мишени для молекулярно-направленной терапии рака. Ранее мы наблюдали высокую избирательную цитотоксичность ряда катионных пептидов (КП) и совместную локализацию C23/B23/КП в ядрах клеток из линий меланомы кожи человека.

**Задачи исследования.** Анализ возможных механизмов цитотоксичности с участием C23/B23 на различных клеточных моделях.

**Материалы и методы.** Клетки глиобластомы линий Glb Sh и Glb-17, рака почки КК Рпоч1 и рака яичников линии GrovCel культивировали в стандартных условиях в среде RPMI-1640 с добавлением 10 % сыворотки, суспензию клеток 2-суточной культуры высевали в ми-

кросейки, через сутки вносили КП NC811, флуоресцентно меченный цианином Су5; экспрессию мРНК и белков анализировали с помощью ОТ-ПЦР, вестерн-блоттинга, а также ИГХ после удаления ячеек, фиксации и ИГХ-окрашивания клеток.

**Результаты.** Внесение Су5-NC811 (1 мкг/мл) в микросейки с клетками GrovCell усилило экспрессию мРНК NCL/NPM и экспорт кодируемых ими белков C23/ B23 в ядро с последующим снижением уровней их экспрессии; наблюдалась экспрессия p53, фосфорилированного по ser15, и активация каспазы-3, что указывает на индукцию p53-зависимого апоптоза с участием C23/B23. При этом наблюдалась колокализация Су50-NC811, p53, C23и B23 в ядре и ядрышках с последующей фрагментацией и гибелью большинства клеток в течение 6–8 ч. Этот механизм сходен с так называемым ядрышковым стрессом, в котором C23/B23 играют ключевую роль. В клетках глиобластомы с высокой пролиферативной активностью (Glb-Sh) уровень мРНК NCL и белка C23 выше, чем при более низком уровне пролиферации (Sh-17). После внесения Су5-NC811 уровень C23 в клетках снизился, а p53 – возрос. Эти процессы и окраска клеток Хекст33342 указывают на p53-зависимый апоптоз.

**Выводы.** В механизм индуцированной КП гибели опухолевых клеток из различных модельных линий вовлечены C23, B23, p53 и каспаза-3 по типу ядрышкового стресса.

## Ингибирование REDD1 как новый подход к подавлению побочных эффектов глюкокортикоидов в химиотерапии злокачественных новообразований кроветворной системы

А.В. Савинкова<sup>1</sup>, М.Д. Лаврова<sup>2</sup>, Л.Р. Тилова<sup>1</sup>, Е.М. Жидкова<sup>1</sup>, К.А. Кузин<sup>1</sup>, А.Ю. Портянникова<sup>1</sup>, М.Г. Якубовская<sup>1</sup>, Е.А. Лесова<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБОУ «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева», Москва;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, Рязань

Глюкокортикоиды (ГС) применяют в каждом протоколе ХТ злокачественных новообразований кроветворной системы. Однако применение ГС часто ведет к развитию побочных эффектов. Биологические эффекты ГС реализуются посредством активации глюкокортикоидного рецептора (GR), который регулирует экспрессию генов путем трансрепрессии, обуславливающей терапевтическое действие ГС, и трансактивации, с которой связано развитие побочных эффектов. Ранее

показано, что GR-зависимый ген *REDD1* (regulated in development and DNA damage response 1) имеет большое значение в развитии побочных эффектов GC.

Задачей данной работы являлась оценка влияния потенциальных ингибиторов *REDD1* на рост и жизнеспособность клеток лимфомы Granta и лейкоза СЕМ, а также на функционирование GR.

С помощью биоинформатического скрининга нами отобраны потенциальные ингибиторы *REDD1* – модуляторы передачи сигналов PI3K Wortmannin и LY294002. Показано, что в обеих клеточных линиях данные препараты подавляли базальный и GC-индуцированный уровень экспрессии *REDD1* как на уровне белка, так и на мРНК. При оценке цитотоксического эффекта было показано, что в комбинации с GC Wortmannin и LY294002 проявляют аддитивный цитотоксический эффект на клетки обеих. Фосфорилирование GR и транслокация его в ядро были подавлены LY294002. Более того, в люциферазном тесте и с помощью количественной ПЦР показано, что процесс трансактивации подавлен, в то время как трансрепрессия реализуется в полном объеме.

Таким образом, показано, что выбранные нами потенциальные ингибиторы *REDD1* подавляют его экспрессию и модулируют функциональную активность GR, подавляя запуск механизма трансактивации, что в дальнейшем может служить основой для разработки более безопасных и эффективных протоколов ХТ злокачественных новообразований кроветворной системы.

*Работа поддержана грантами РФФИ № 15-04-04006 и 16-04-01410, грантом РНФ № 17-75-20124.*

## Комплекс основания Шиффа изатина с медью (II) – потенциальный р53-активирующий противоопухолевый препарат

Р.М. Саярова, Ю.В. Игнатев, Э.Р. Булатов

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

**Введение.** р53 является одним из основных онкосупрессоров, способных в ответ на стрессовые факторы, такие как повреждения ДНК, запускать остановку клеточного цикла и репликации, а также апоптоз. В настоящее время актуальной задачей является поиск активаторов белка р53 на основе низкомолекулярных соединений на основе координационных соединений металлов (англ. metallodrugs). Таковыми являются основания Шиффа – перспективное средство борьбы со злокачественными новообразованиями. Их легко синтезировать, они образуют комплексы с металлами в различных степенях окисления и проявляют много-

функциональность. Комплекс основания Шиффа изатина с медью (II) способен *in vivo* активировать транскрипционные функции р53 и вследствие этого обладает потенциальным противоопухолевым действием.

**Задачи исследования.** Исследовать потенциальную противоопухолевую активность комплекса основания Шиффа изатина с медью (II) – оценить влияние исследуемого вещества на жизнеспособность и пролиферативную активность клеток, а также на активацию р53-зависимых генов.

**Материалы и методы.** Исследование проводилось на клеточных культурах MCF7 (аденокарцинома молочной железы человека) и НСТ116 (колоректальный рак человека). В работе использованы следующие методы: колориметрический MTS-тест на жизнеспособность клеток, биосенсорный клеточный анализ пролиферативной активности на приборе xCELLigence (ACEA Biosciences, США), количественная ОТ-ПЦР в реальном времени.

**Результаты.** Полученные результаты свидетельствуют о том, что исследуемое вещество оказывает влияние как на жизнедеятельность и клеточную пролиферацию клеток линий НСТ116 и MCF7, так и на экспрессию р53 зависимых генов. Колориметрический тест на жизнеспособность клеток продемонстрировал цитотоксичность комплекса, а тест на пролиферативную активность клеток – значительное угнетение пролиферации. В результате оценки уровня экспрессии гена *TP53* и р53-зависимых генов *Puma* и *Mdm2* в обработанных клетках показано изменение экспрессии по сравнению с контролем.

**Выводы.** Показано, что комплекс оснований Шиффа изатина с медью (II) оказывает противоопухолевое действие. Полученные результаты расширяют общее понимание влияния низкомолекулярных активаторов онкосупрессора р53, а также открывают новые горизонты для дальнейших исследований и поиска новых лекарств, нацеленных на лечение злокачественных образований.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-34-60213 мол\_a\_дк.*

## Антрафураны – мультитаргетные ингибиторы опухолевого роста

А.С. Тихомиров<sup>1</sup>, В.Б. Цветков<sup>1</sup>, А.М. Королев<sup>1</sup>, Р. Каур<sup>2</sup>, А.Е. Щекотихин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИНА им. Г.Ф. Гаузе», Москва;

<sup>2</sup>Biophysics, All India Institute of Medical Sciences, New Delhi, India

Антра [2,3-*b*] фуран-5,10-дионы обладают значительным потенциалом для разработки нового поколения аналогов противоопухолевых антрациклинов с улучшенными свойствами. Ранее было обнаружено, что помимо действия на классические для антрацендионов мишени (ДНК и топоизомеразы 1, 2) этот класс

соединений способен индуцировать апоптоз через Sirt1-tNOX-опосредованный путь (A.S. Tikhomirov et al., 2015).

Производные наиболее перспективного подкласса – антрафуран-3-карбоксамидов – продемонстрировали противоопухолевое действие на моделях опухолей животных, в том числе в резистентных (Н.М. Treshalina et al., 2017). Изучение механизма действия соединения-лидера антра [2,3-*b*] фуран-3-карбоксамида LCTA-2034 показало, что параллельно с интеркаляцией дуплекса ДНК и ингибированием топоизомераз 1, 2 это вещество способно подавлять активность 9 серин-треониновых протеинкиназ. Так, 50 % ингибирующая концентрация LCTA-2034 для киназ MKNK1, MAP3K7/MAP3K7IP1, Pim 1 и 3, RIPK5, TLK1 и других составила менее 5 мкмоль. При этом наибольший эффект наблюдался в отношении протеинкиназ Aurora B и C ( $IC_{50} \sim 1$  мкмоль).

Анализ взаимодействия соединения LCTA-2034 с протеинкиназой Aurora B методом молекулярного моделирования (ICM-Pro версия 3.8.3) показал, что лиганд докирывается в сайт связывания АТФ. Ключевую роль в энергии связывания антрафуранкарбоксамида играют гидрофобные взаимодействия между ядром антрахинона и остатками гидрофобных аминокислот АТФ-связывающего кармана. Кроме того, стабилизация комплекса происходит за счет образования водородных связей между функциональными группами лиганда и пептидными связями белкового кора, важнейшей из которых является связь между карбонильной группой и NH группой остатка Lys164, расположенного рядом с активным центром фермента. Полученная модель связывания LCTA-2034 с мишенью использована для дизайна новой серии аналогов и производных антрафуранкарбоксамидов.

## Влияние Кураксина на клетки злокачественных новообразований кроветворной системы

Т.И. Фетисов<sup>1,2</sup>, Е.Е. Антошина<sup>1</sup>, Л.С. Труханова<sup>1</sup>, Т.Г. Горькова<sup>1</sup>, М.Г. Якубовская<sup>1</sup>, К.И. Кирсанов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва

Кураксин представляет собой низкомолекулярное производное карбазола, высокоаффинное к ДНК. При действии Кураксина существенно изменяется функциональная активность ряда сигнальных путей. В частности, наблюдается запуск р53-зависимого апоптоза и ингибирование NF-κB сигнального пути. Данные по антиканцерогенному эффекту Кураксина в отношении индуцированных диметилгидразином аденокарцином толстой кишки позволили предположить, что Кураксин ингибирует сигнальный путь WNT, который контролирует множество клеточных процессов, включая

дифференцировку, пролиферацию, миграцию, апоптоз и поддержание клетками стволового фенотипа.

В данной работе мы показали, что одним из механизмов цитотоксического действия Кураксина относительно клеток рака толстой кишки, рака легкого, РПЖ, РМЖ можно рассматривать влияние препарата на WNT-сигналинг. Мы продемонстрировали это влияние с использованием TCF/LEF-люциферазного репортерного анализа и оценки с помощью ПЦР в реальном времени экспрессии эфферентных генов сигнального пути WNT (с-Мус, CCND1, Surv), а также ингибиторов WNT-сигналинга DKK1, SFRP1, SFRP2. Изменение активности WNT сигнального пути выявляется в широком спектре патологий, в том числе и при онкологических заболеваниях. Данный сигнальный путь активирован в злокачественных новообразованиях кроветворной системы, что позволило нам предположить перспективность использования Кураксина в терапии онкозаболеваний данной нозологии. Далее мы провели анализ цитотоксического действия Кураксина на клеточные линии острого Т-клеточного лимфолейкоза (Сем), хронического миелоидного лейкоза (K562), а также лимфомы (Granta). Мы показали, что Кураксин вызывает снижение экспрессии WNT-зависимых генов (с-Мус, CCND1, Lef1) в клетках этих линий. Изучено влияние Кураксина на рост опухоли на модели лимфолейкоза P-388. Полученные нами данные указывают на противоопухолевую активность Кураксина в отношении как лимфом, так и лейкозов.

## Радиофармацевтический альфа-эмиттерный препарат «Астат-211» для лечения онкологических заболеваний щитовидной железы

О.А. Юминов<sup>1</sup>, Д.А. Бондаренко<sup>2</sup>, В.А. Дроздов<sup>1</sup>, Д.О. Еременко<sup>1,3</sup>, А.Н. Мурашев<sup>2</sup>, С.Ю. Платонов<sup>1,3</sup>, О.В. Фотина<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>НИИ ядерной физики им. Д.В. Скобельцина МГУ им. М.В. Ломоносова;

<sup>2</sup>Институт биоорганической химии им. академиком М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пушкино;

<sup>3</sup>Физический факультет ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова»

Разработанный радиофармацевтический препарат «Астат-211» является терапевтическим препаратом нового поколения, позволяющим реализовать эффективный метод адресной радионуклидной терапии рака щитовидной железы путем селективного воздействия на опухолевые ткани пациента. Действие созданного инновационного препарата основано на применении в качестве действующего фактора короткоживущего альфа-радиоактивного изотопа <sup>211</sup>At.

В ходе проведения доклинических исследований отработана оптимальная процедура обеспечения и контроля

стерильности и апиrogenности разработанного радиофармацевтического препарата «Астат-211». Кроме того, должны быть проведены исследования острой и субхронической токсичности препарата «Астат-211» на лабораторных животных, а также исследования, направленные на определение летальной и максимальной толерантной дозы при терапевтическом использовании.

В завершение доклинических испытаний изучена фармакокинетика препарата «Астат-211», т. е. измерена временная зависимость его концентрации в органах и тканях лабораторных животных при внутривенном введении препарата. На основании полученной экспериментальной информации по фармакокинетике для лабораторных животных выполнены прогностические теоретические расчеты поглощенных доз в облучаемых органах и тканях человека на единицу вводимой активности при внутривенном введении радиофармпрепарата «Астат-211».

### **Влияние неонатального применения мелатонина на спонтанный канцерогенез и старение у самцов мышей 129/SV**

**М.Н. Юрова, М.Л. Тындык, В.Н. Анисимов**

*ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург*

В последнее время активно расширяется спектр применения гормона мелатонина, в том числе в неонатальном периоде. Известно, что длительное введение мелатонина половозрелым животным может увеличивать продолжительность жизни и тормозить развитие опухолей, но в то же время не решена актуальная

проблема роли периода онтогенеза в чувствительности организма к действию данного препарата.

Задача исследования состояла в экспериментальном изучении молекулярных и физиологических механизмов модифицирующего действия гормона мелатонина при неонатальном введении мышам инбредной линии 129/Sv на параметры жиро-углеводного обмена, канцерогенеза и старения. Самцам мышей 129/Sv на 3, 5 и 7-й дни жизни подкожно вводили мелатонин в дозе, соответствующей 2 мг/л питьевой воды (39 мышат), или воду для инъекций в качестве контроля (50 мышат).

На протяжении всей жизни вес самцов, получавших мелатонин, был до 10 % ниже ( $p < 0,05$ ) контрольного при сходном уровне потребления корма. В возрасте 3 мес был проведен анализ особенностей углеводного и жирового обмена (уровни в крови глюкозы, инсулина, холестерина, альфа-холестерина, триглицеридов), состояния свободнорадикальной системы, уровня ростовых факторов (IGF-1), гормонов щитовидной железы и некоторых других показателей. Существенного влияния раннего введения мелатонина на исследованные показатели у мышей-самцов 129/Sv не выявлено. Раннее постнатальное введение мелатонина существенно ( $p < 0,05$ ) увеличивало продолжительность жизни (ПЖ) самцов мышей 129/Sv: среднюю ПЖ – на 12 %, медиану ПЖ – на 14 %, максимальную ПЖ – на 3,5 %. У 15 % мышей-самцов контрольной группы развились спонтанные новообразования легких и печени, в том числе в 7 % случаев образования были злокачественными. У мышей, получавших неонатальный мелатонин, частота развития новообразований была ниже, чем в контроле (8 %), злокачественных новообразований выявлено не было.

Таким образом, введение мелатонина в раннем постнатальном периоде оказывает геропротекторный и антиканцерогенный эффект у самцов инбредной линии 129/Sv.

## Тезисы

### Модуляция экспрессии матриксных металлопротеиназ как возможный механизм противоопухолевого действия циклофилина А

А.А. Калинина, Л.М. Хромых,  
М.А. Замкова, Д.Б. Казанский

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** Циклофилин А (ЦФА) – наиболее распространенный член семейства пептидилпролил-цистрас-изомераз. Внутриклеточная форма данного белка участвует в фолдинге, сборке и транспорте белков, а также в передаче внутриклеточных сигналов. Секреторный ЦФА является провоспалительным цитокином и вовлечен в патогенез аутоиммунных, сердечно-сосудистых, вирусных и других заболеваний. Ранее нами показано, что рекомбинантный циклофилин А человека (рЦФА) способен подавлять рост перевиваемой меланомы В16 *in vivo*. Данный эффект может быть опосредован действием матриксных металлопротеиназ (ММП).

**Задачи исследования.** Изучение изменения профиля экспрессии различных ММП, а также тканевого ингибитора металлопротеиназ-1 (ТИМР-1) в клетках меланомы В16 под действием рЦФА.

**Материалы и методы.** Опухолевые клетки в количестве  $3 \times 10^5$  прививали подкожно мышам линии С57BL/6, которых затем обрабатывали рЦФА (подкожно, 100 мкг/мышь) в течение 7 дней. Через 14 дней после прививки сформированные первичные опухоли удаляли хирургическим способом, выделяли тотальную мРНК из опухолевых тканей и синтезировали кДНК. Уровень экспрессии отдельных ММП (ММП2, ММП3, ММП8, ММП9, ММП12) и ТИМР-1 оценивали методом ПЦР в реальном времени, используя гены гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы (*hprt*) и ТАТА-связывающего белка (*thp*) в качестве контроля.

**Результаты.** Показано, что под действием рЦФА в ткани меланомы В16 значительно повышается экспрессия ММП8, ММП9, ММП12 и ТИМР-1. Известно, что наряду с проонкогенными функциями данные ММП, а также ТИМР-1 могут проявлять противораковые свойства на разных стадиях канцерогенеза.

**Выводы.** Таким образом, можно предположить, что циклофилин А способен вызывать торможение роста перевиваемой меланомы В16 *in vivo* посредством повышения экспрессии ММП8, ММП9, ММП12, а также ТИМР-1, проявляющих выраженный противоопухолевый потенциал.

### Альфа-излучающие радионуклиды для таргетной терапии онкологических заболеваний

К.В. Коков, Д.Ю. Чувилин

НИЦ «Курчатовский институт», Москва

Радиоиммунотерапия, или таргетная терапия, основанная на применении альфа-излучающих радионуклидов, которыми метят соединения, обладающие способностью направленной доставки к раковой клетке, является одним из перспективных методов лечения онкологических заболеваний. Благодаря короткому пробегу альфа-частиц формируется высокая локальная доза облучения злокачественной клетки и низкий уровень облучения здоровых тканей. В качестве агентов направленной доставки к злокачественной клетке могут служить моноклональные антитела, специфичные к поверхностным рецепторам клеток некоторых видов опухолей, синтетические пептиды, такие как октреотид и его модификации, и другие соединения.

Альфа-частица имеет короткий пробег в ткани и высокую линейную передачу энергии, что с большой вероятностью приводит к возникновению двунитиевых разрывов ДНК, менее эффективно поддающихся репарации клеткой по сравнению с одиночными разрывами. Таким образом, альфа-излучение способно эффективно поражать злокачественные клетки даже при условиях гипоксии. Также, как показывают исследования, для уничтожения опухолевой клетки требуется лишь несколько распадов  $\alpha$ -частиц на клеточной мембране; при этом обеспечивается низкий уровень облучения окружающих здоровых тканей. Поэтому альфа-эмиттеры особенно уместно применять при наличии гематологических заболеваний, микрометастазов и в некоторых других случаях.

Именно эти преимущества и вызывают интерес к альфа-эмиттерам в качестве терапевтических агентов для радиоиммунотерапии. В то же время главными препятствиями на пути широкого внедрения в клиническую практику препаратов, меченных альфа-эмиттерами, являются высокая стоимость и ограниченная доступность последних.

В связи с этим с целью развития таргетной терапии в медицине в НИЦ «Курчатовский институт» ранее проводились и продолжают проводиться эксперименты по мечению биологических конструкций радиоизотопами, а именно альфа-излучающими изотопами  $^{212}\text{Bi}$  ( $T_{1/2}$  60 мин),  $^{213}\text{Bi}$  ( $T_{1/2}$  46 мин), а также бета-излучающими  $^{177}\text{Lu}$  ( $T_{1/2}$  6,65 сут) и  $^{212}\text{Pb}$  ( $T_{1/2}$  10,64 ч),

последний из которых также известен в качестве *in vivo* генератора альфа-частиц.

## Особенности накопления малых интерферирующих РНК в различных клетках *in vitro* и *in vivo*

А.Ю. Кузеванова<sup>1</sup>, А.С. Лунева<sup>2</sup>, О.И. Коняева<sup>3</sup>,  
Н.Ю. Кульбачевская<sup>3</sup>, М.А. Маслов<sup>2</sup>,  
А.А. Алимов<sup>1</sup>, А.В. Карпухин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва;

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «МТУ ИТХТ им. М.В. Ломоносова», Москва;

<sup>3</sup> ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

Для использования малых интерферирующих РНК (миРНК) как в исследовательских, так и особенно в практических целях, существенное значение имеет информация о проникновении миРНК в комплексе со средствами доставки в интересующие клетки и системы, а также о времени их нахождения в клетках и тканях. Для получения такой информации важно использовать эффективные методы, наиболее адекватно отражающие содержание миРНК в интересующих объектах.

С этой целью нами проведена серия экспериментов по переносу миРНК в клетки раковых линий различных типов, растущих *in vitro*, и в лабораторных условиях у мышей. Исследование одобрено локальным этическим комитетом. Выделение РНК проводили с использованием коммерческих наборов. Присутствие миРНК в клетках и тканях определяли при помощи количественной ПЦР в реальном времени. Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение DataAssist™ v3.0 Software (Applied Biosystems, США). В экспериментах на перевиваемых клеточных линиях использовали клетки, полученные из опухолей толстого кишечника различных типов; клетки опухоли шейки матки, клетки карциномы легкого, клетки опухоли молочной железы, клетки меланомы кожи и клетки глиобластомы.

Показано, что эффективность переноса миРНК и вызываемый ими биологический эффект зависят от типа клеток, но скорее всего не связаны с особенностями их морфологического происхождения. Введенные миРНК медленно метаболизируются и могут находиться в клетках более 3 сут. В экспериментах на животных обнаружено, что распределение введенных внутривенно миРНК между органами реципиента носит неравномерный характер. Основными органами накопления являются печень и селезенка, тем не менее физиологически значимые количества миРНК были обнаружены в тканях легкого, почки и мозга. Эффект носит зависимый от дозы характер. Показано, что миРНК медленно выводятся из организма.

Полученные сведения актуальны для понимания процессов, происходящих в злокачественных клетках

с участием миРНК, а также для планирования доклинических и клинических исследований при разработке лекарственных препаратов на основе терапевтических миРНК.

## Исследование механизма цитотоксичности 4-аминометильных производных гелиомицина

Г.Я. Надьсев<sup>1</sup>, А.С. Тихомиров<sup>1</sup>, Л.Г. Деженкова<sup>1</sup>,  
Pin Ju Chueh<sup>2</sup>, А.Е. Щекотихин<sup>1</sup>,

<sup>1</sup> ФГБНУ «НИИНА им. Г.Ф. Гаузе», Москва;

<sup>2</sup> Graduate Institute of Basic Medicine, China Medical University,  
Taichung, Taiwan

Гелиомицин (резистомицин) — антибиотик, продуцируемый актиномицетом *Streptomyces resistomycificus*. Тесты антибиотика *in vitro* выявили его способность блокировать пролиферацию некоторых видов опухолевых клеток (M. Lamberty et al., 2001). Широкий спектр биологической активности антибиотика, включающий противовирусные и антибактериальные свойства (G. Adinarayana et al., 2006), указывает на целесообразность синтеза его новых производных, а также исследования связи «структура—активность» и механизма ингибирования опухолевого роста.

Нами найдено эффективное направление модификации гелиомицина с использованием реакции Манниха, получена серия 4-аминометильных производных с вариацией структуры аминогруппы в боковой цепи и проведена оценка их биологических свойств (G. Nadysev et al., 2017). Новые полусинтетические производные гелиомицина показали высокую антипролиферативную активность, причем большинство из них оказались способны преодолевать 2 различных механизма лекарственной резистентности опухолевых клеток. Так, производные гелиомицина индуцируют апоптоз клеток, экспрессирующих Р-гликопротеин (сублиния K562/4), а также клеток сублинии НСТ116р53КО с делецией гена *p53*. Показано, что введение аминометильного заместителя в положение 4 антибиотика повышает связывание с дуплексом ДНК, причем при наличии дополнительной аминогруппы в боковой цепи (производное LCTA-2546) константа связывания с ДНК возрастает на 2 порядка. Таким образом, данные о связывании 4-аминометильных производных гелиомицина хорошо коррелируют со способностью соединений ингибировать топоизомеразу I (Top-1). Кроме того, обнаружено, что высокая антипролиферативная активность производных LCTA-2544, LCTA-2546 и LCTA-2553 хорошо коррелирует с их способностью генерировать активные формы кислорода ROS, что указывает на 2 возможных пути индукции гибели опухолевых клеток: через ингибирование Top-1 или генерацию ROS.

## Потенциальная ценность аналогов путресцина для химиотерапии рака простаты

А.А. Николаев, С.В. Выборнов

ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России

Три полиамина — спермин, спермидин и путресцин — играют определенную роль в биологии клеток. Первые два широко распространены в тканях и биологических жидкостях животных, а путресцин встречается в следовых количествах. Высокий уровень полиаминов способствует пролиферации, инвазии и миграции опухолевых клеток. Метаболизм полиаминов представляет собой новую важную мишень для противоопухолевой терапии. Некоторые аналоги полиаминов могут вызывать ингибирующее действие на опухолевые клетки, нарушая метаболизм собственных полиаминов.

Цель работы состояла в том, чтобы исследовать потенциальную ценность аналога полиаминов тетрабутилпропандиамина (ТБП) и других аналогов путресцина для ХТ РПЖ человека на основе изучения влияния этого вещества на клетки культуры РПЖ LNCAP клона ФСК (ЕСАСС 89110211) и базовый механизм этих эффектов. Анализ клеточной пролиферации проведен классическим методом МТТ-теста. Ферментативную активность оксидазы полиаминов определяли по образованию перекиси водорода при окислении спермина полиаминоксидазой. Получены данные, свидетельствующие о том, что уже известный аналог полиаминов ТБП может затормозить рост клеток РПЖ линии LNCAP, активируя ключевой фермент в катаболизме полиаминов, и имеет потенциальную ценность для клинической терапии РПЖ человека. Нами синтезированы аналоги полиаминов NN'(1,3)-дибутилпропан-1,3диамин (ТДП) и N, N(1,1)-дибутилпропан-1,3диамин (ВДП). N, N(1,1) дибутилпропан-1,3диамин превышает по своей антипролиферативной активности тетрабутилпропан-1,3диамин, вызывая более сильную активацию полиаминоксидазы. Недостатком этого аналога является необходимость применения более высоких его концентраций. Наше исследование показало, что уже известный аналог полиаминов ТБП может затормозить рост клеток РПЖ линии LNCAP, активируя ключевой фермент в катаболизме полиаминов, и имеет потенциальную ценность для клинической терапии РПЖ человека.

## Новый противоопухолевый гестаген

В.М. Ржезников<sup>1</sup>, В.Н. Толкачев<sup>2</sup>, Т.А. Федотчева<sup>3</sup>,  
Н.Л. Шимановский<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ эндокринологии»  
Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России,  
Москва

Гестагены нашли применение при лечении ряда гормонозависимых опухолей, таких как рак шейки матки, рак эндометрия и, ограниченно, при РМЖ. При эндометриозе — хроническом заболевании, длительное лечение которого часто приводит к малигнизации, гестагены являются препаратами первой линии терапии. Арсенал используемых средств включает только зарубежные препараты типа Депо-Провера, Мегейс, Депо-стат.

Путем химического синтеза трансформирована структура мегестрола и получен новый гестаген 3-бутират 17 $\alpha$ -ацетокси-6-метилпрегна-4,6-диен-3 $\beta$ -ол-20-она (Бутерол). Соединение продемонстрировало высокую противоопухолевую активность как *in vivo*, так и *in vitro*, в ряде тестов превосходящую эффект Депо-Провера. Так, например, на мышах с раком шейки матки РШМ-5 Бутерол вызывал торможение роста опухолей на 73 %, тогда как активность известного препарата составляла 55 %. Бутерол обладает также хемосенсибилизирующим действием, усиливая противоопухолевую активность препаратов разных групп: антибиотика доксорубина, алкалоида винкристина и ингибитора топоизомеразы этопозиды. Изучено влияние Бутерола на ряд факторов, участвующих в развитии множественной лекарственной устойчивости. На клеточной культуре РМЖ MCF-7 обнаружена его способность снижать экспрессию мРНК Р-гликопротеина, содержащего, как известно, сайт связывания прогестерона. Аналогичный эффект установлен и при изучении влияния Бутерола на экспрессию мРНК белков семейства ABC-транспортёров MRP-1 и BCRP. Мы полагаем, что синтезированный гестаген может оказывать влияние и на процесс апоптоза раковых клеток, поскольку ингибирует экспрессию антиапоптотического белка BCL-2.

## Опыт получения клеточной культуры и оценки лекарственной устойчивости ретинобластомы

С. В. Саакян<sup>1</sup>, А. Ю. Цыганков<sup>1</sup>, Н. И. Моисеева<sup>2</sup>,  
А. Ф. Карамышева<sup>2</sup>, М. Г. Жильцова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «МНИИ глазных болезней им. Гельмгольца»  
Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, Москва

**Введение.** Культивирование клеток ретинобластомы *in vitro* является значимым методом изучения их свойств, в том числе за счет возможности получения аналогичной нативной опухолевой массы.

**Задачи исследования.** Попытка создания первичной клеточной культуры ретинобластомы и оценка лекарственной устойчивости к химиопрепаратам.

**Материалы и методы.** В исследование вошли 19 пациентов в возрасте 6–64 мес ( $27,9 \pm 17,4$ ). У 6 (31,6 %) пациентов отмечено билатеральное поражение, у 13 (68,4 %) – моностеральное. У 18 (94,7 %) пациентов выявлена ретинобластома группы E. Во всех случаях выполнена энуклеация, при этом в 94,7 % случаев определена низкодифференцированная ретинобластома. Взятые образцы опухолевой ткани для получения клеточной культуры с последующим исследованием лекарственной устойчивости (МТТ-тест).

**Результаты.** В 4 случаях удалось получить переживающие адгезивные первичные культуры ретинобластомы. Проведена цитологическая верификация полученных культур. При билатеральном поражении первичные культуры были получены чаще (4/6), тогда как при моностеральном поражении клетки не приживались (0/13) ( $p = 0,003$ ). Статистически значимой взаимосвязи с возрастом пациентов ( $p = 0,33$ ) и наличием кальцинатов в опухоли по данным УЗИ ( $p = 0,26$ ) не выявлено. Проведенный МТТ-тест показал отсутствие различий в чувствительности клеточных культур к иринотекану и ифосфамиду. Выявленные отличия в устойчивости между культурами получены только для оксалиплатина и аскорбиновой кислоты.

**Выводы.** В работе описан первый опыт в Российской Федерации получения клеточной культуры ретинобластомы и оценки химиочувствительности к различным препаратам. Проведение МТТ-теста с оценкой лекарственной устойчивости может быть использовано как в клинической практике для уточнения режима ХТ зарегистрированными препаратами, так и для разработки новых подходов к лечению ретинобластомы при оценке резистентности опухолевых клеток *in vivo* на животных моделях.

## Изменение чувствительности клеточной линии SCC61 к цисплатину под действием ингибитора PFI-3

Д. В. Савенкова<sup>1</sup>, Л. Ф. Минигулова<sup>1</sup>, К. В. Гавриш<sup>1</sup>,  
В. С. Скрипова<sup>1</sup>, И. Г. Серебрянский<sup>2</sup>, Р. Г. Киямова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский)  
федеральный университет»;

<sup>2</sup>Центр исследований рака «Fox Chase», Филадельфия, США

Одной из главных проблем терапии раковых заболеваний является резистентность к химиопрепаратам, включая широко используемый препарат цисплатин. Данный препарат является цитотоксическим противоопухолевым химиотерапевтическим препаратом алкилирующего типа, содержащим в составе молекулу двухвалентной платины (II). Действие цисплатина основано на химическом повреждении нуклеотидных оснований за счет образования внутренних, внешних и поперечных сшивок ДНК, что приводит к нарушению репликации, транскрипции, задержке клеточного цикла и апоптозу. Известно, что у ряда злокачественных опухолей может развиваться резистентность к цисплатину в связи с нарушениями его накопления в клетке или нарушением механизмов репарации ДНК в опухоли. В связи с этим актуальной задачей является увеличение чувствительности опухолевых клеток к действию цисплатина, путем поиска новых геномишеней, продукты которых могут участвовать в регуляции чувствительности к препарату.

Комбинированная терапия является одним из многообещающих подходов преодоления резистентности лекарственных препаратов. Объектом нашего исследования стали гены *SMARCA2* и *SMARCA4* (АТФ-зависимые хеликазы), предположительно вовлеченные в регуляцию чувствительности опухолевых клеток к действию цисплатина по данным биоинформатического анализа (Garopova et al. 2017). Для проверки был выбран селективный ингибитор продуктов генов *SMARCA2* и *SMARCA4* – PFI-3, действие которого основано на связывании с бромодоменами *SMARCA 2* и *SMARCA 4* (B. Vangamudi et al., 2015; O. Fedorov et al., 2015). Для изучения влияния ингибирования продуктов генов *SMARCA 2* и *SMARCA 4* клетки линии SCC61 инкубировали с цисплатином в диапазоне концентраций от 1 до 128 мкмоль с добавлением ингибитора PFI-3 (25 и 50 мкмоль). Согласно полученным данным построены кривые жизнеспособности в программе GraphPad Prism и определены значения IC50. Уровень статистической значимости между значениями IC50 в экспериментах с добавлением ингибитора и без определяли согласно критерию Фишера. Статистически значимыми признавались значения  $p < 0,05$ . В результате было показано, что PFI-3 в количестве 25 и 50 мкмоль понижал чувствительность клеточной линии SCC61 к цисплатину на 28 и 65 % соответственно. Таким образом,

при ингибировании белков SMARCA2 и SMARCA4 с помощью PFI-3 наблюдается уменьшение чувствительности клеточной линии SCC61 к цисплатину. Дальнейшее исследование наблюдаемого эффекта важно для изучения механизмов резистентности опухолей к терапии цисплатином.

## Механизмы гибели опухолевых клеток при действии новых производных нафтохинона с оксимной группой

А.В. Шунаев<sup>1</sup>, Ю. Халявина<sup>2</sup>, Л.М. Горностаев<sup>2</sup>,  
А.А. Штиль<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Красноярский педагогический университет  
им. В.П. Астафьева»

Синтетические производные нафтохинонов – перспективный класс противоопухолевых соединений. Химические модификации в этом классе направлены на получение производных с меньшей способностью вызывать окислительный стресс (для уменьшения повреждения неопухолевых клеток) при сохранении противоопухолевой активности. Это может быть до-

стигнуто заменой карбонильной группы в остове на оксимную (Gornostaev et al., 2017).

Задача работы – исследование молекулярных механизмов гибели клеток при действии новых производных, содержащих оксимную группу.

Установлено, что отдельные новые соединения вызывают гибель клеток рака кишки, молочной железы и лейкозов в микромолярных концентрациях при менее выраженной цитотоксичности для неопухолевых фибробластов. Первоначальный эффект активных соединений – задержка клеточного цикла на границе фаз S и G2/M. В дальнейшем задержанные клетки погибают, что определяется по накоплению «событий» в фазе суб-G1. Межнуклеосомная фрагментация ДНК – фрагменты 140–170 пар нуклеотидов в электрофорезе – подтверждает апоптотический механизм гибели клеток. Апоптоз сопровождается активацией (протеолитическим процессингом) каспаз 3 и 9, что установлено в иммуноблоттинге. Снижение активности серин-треониновых протеинкиназ Chk1 и Chk2 сопровождается снижением фосфорилирования их субстратов ATR и ATM. Интересно, что фосфорилирование ATM и ATR двухфазное и зависит от концентрации и времени воздействия на клетки. Эти результаты позволяют предположить повреждение ДНК как пусковой механизм апоптоза. Требуется идентификация внутриклеточных мишеней новых соединений и доклинические испытания.

## СЕКЦИЯ VI

# МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА И ТЕРАПИЯ ОПУХОЛЕЙ

### Доклады

#### Полиморфизм генов репарации ДНК у больных аденокарциномой легкого

М.Л. Баканова<sup>1</sup>, В.И. Минина<sup>1,2</sup>, Я.А. Савченко<sup>1</sup>,  
В.И. Федосеев<sup>1</sup>, В.А. Титов<sup>3</sup>, И.А. Вафин<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт экологии человека»  
ФИЦ УУХ СО РАН, Кемерово;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный  
университет», Кемерово;

<sup>3</sup>ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический  
диспансер», Кемерово;

<sup>4</sup>ГКУЗ КО «Кемеровский областной центр крови»,  
Кемерово

**Введение.** Рак легкого — самый распространенный рак во всем мире как с точки зрения заболеваемости, так и смертности (Siegel et al., 2011). К наиболее распространенным видам рака легкого относится аденокарцинома. Система репарации ДНК является первым барьером на пути возникновения геномной нестабильности и канцерогенеза под действием мутагенов.

**Задачи исследования.** Анализ полиморфных вариантов генов репарации ДНК у больных аденокарциномой легкого.

**Материалы и методы.** Обследовано 647 жителей Кемеровской области. Из них 312 человек находились на лечении в Кемеровском областном клиническом онкологическом диспансере с диагнозом аденокарциномы легкого. В качестве группы сравнения было обследовано 335 здоровых лиц, проживающих в г. Кемерово. У каждого испытуемого взято согласие на участие в исследовании. Выделение ДНК осуществляли из периферической крови методом фенол-хлороформной экстракции. Полиморфные варианты генов *APE1* (T444G), *hOGG1* (C977G), *ADPRT* (T2285C), *XPB* (T2251G) изучали методом аллель-специфической ПЦР (НПФ «Литех», Москва). Статистическую обработку материала проводили с использованием программ SNPstats

(<http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats>), Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Сравнение частот генотипов проводили с помощью четырехпольной таблицы сопряженности с поправкой Йетса на непрерывность вариации ( $\chi^2$ ). Нулевую гипотезу отвергали при  $p$  (достигнутый уровень значимости)  $\leq 0,05$ . Использовали также поправку на множественность сравнений (поправка Бонферрони (Bonferroni)).

**Результаты.** Выявлены взаимосвязи полиморфизмов генов *XPB* (T2251G) и *hOGG1* (C977G) с риском развития аденокарциномы легкого. Наиболее значимо ассоциация проявлялась в лог-аддитивных моделях *XPB* (T2251G) (ОШ<sub>adj</sub> 1,46; 95 % ДИ 1,11–1,92;  $p_{adj} = 0,0059$ ) и *hOGG1* (C977G) (ОШ<sub>adj</sub> 1,63; 95 % ДИ 1,24–2,14;  $p_{adj} = 3e-04$ ). В ряде исследований установлено, что минорные варианты генов *hOGG1* 977G, *XPB* 2251G ассоциированы с пониженным репарационным потенциалом (Dherin et al., 1999; Vodichka et al., 2007; S.M. Hou et al., 2002) и повышенным риском онкозаболеваний (Wang et al., 2017; Wu et al., 2014; Saikia et al., 2014).

**Выводы.** Полученные результаты указывают на потенциальную значимость полиморфных аллелей *XPB* 2251G и *hOGG1* 977G в возникновении аденокарциномы легкого. Дальнейшее исследование по данному направлению позволит выявить специфичные маркеры для формирования групп высокого индивидуального риска развития аденокарциномы легкого.

## Прогностическая ценность $G_0/G_1$ фракции диплоидных клеток в ткани рака яичников

Т.А. Богущ<sup>1</sup>, И.А. Мамичев<sup>1</sup>, Ю.П. Борисенко<sup>2</sup>,  
Н.О. Вихлянцев<sup>1</sup>, А.Н. Гришанина<sup>1</sup>, М.М. Давыдов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва

**Введение.** Выявление изменений ploидности и пролиферативной активности опухолевых клеток позволяет прогнозировать агрессивность заболевания и резистентность к ХТ. Однако методические сложности, возникающие при отдельной оценке этих показателей, а именно неудовлетворительное расхождение пиков флуоресценции при окрашивании специфическим красителем ДНК, делает до 40 % результатов анализа неинформативными. Мы предположили, что этой сложности можно избежать, заменив дифференцированный анализ ploидности и пролиферативной активности опухоли интегральным показателем 2 прогностически неблагоприятных характеристик опухоли — суммой анеуплоидных и делящихся клеток, независимо от их ploидности. В конечный анализ включается заведомо благоприятный показатель — фракция диплоидных клеток в фазе клеточного цикла  $G_0/G_1$  (доля диплоидных клеток от общего числа проанализированных клеток).

**Задачи исследования.** Оценка количественного показателя фракции диплоидных клеток в фазе  $G_0/G_1$  как предиктора эффективности первой линии ХТ рака яичников с включением препаратов платины и таксанов.

**Материалы и методы.** Исследовано 57 образцов серозного рака яичников III стадии с использованием красителя ДНК Hoechst N33258 и проточной цитофлуориметрии. Образцы опухолей разделены на 3 подгруппы в соответствии с продолжительностью безрецидивного периода после завершения первой линии ХТ: до 6 мес — резистентные опухоли ( $n = 14$ ), от 6 до 12 мес — условно чувствительные ( $n = 13$ ), более 12 мес ( $n = 30$ ) — чувствительные. Статистическую обработку данных проводили с применением программного обеспечения FlowJo 7.6.1. и WinMDI 2.9.

**Результаты.** Рак яичников характеризуется значительной гетерогенностью по величине фракции диплоидных клеток в фазе  $G_0/G_1$  — от 27 до 95 % с медианой по всей группе включенных в анализ опухолей 73 %. Выявлены различия между показателями фракции в подгруппах чувствительных и резистентных опухолей ( $p = 0,0019$ ). Статистически значимых различий не отмечено между группами чувствительных и условно чувствительных, а также между условно чувствительными и резистентными опухолями ( $p = 0,135$  и  $p = 0,15$ ). В течение 38 мес наблюдения рецидив болезни в под-

группе пациенток, в опухолях которых уровень фракции диплоидных клеток в фазе  $G_0/G_1$  был меньше медианы, диагностирован в 16 (62 %) из 26 случаев, а в подгруппе опухолей с уровнем показателей маркера больше медианы — в 11 (35 %) случаях из 31, т. е. почти в 2 раза реже. Различия между кривыми Каплана—Майера оказались статистически значимыми ( $p = 0,0468$ ).

**Выводы.** Количественный показатель фракции диплоидных клеток в фазе  $G_0/G_1$  в опухоли является благоприятным предиктором эффективности первой линии ХТ препаратами платины и таксанами.

Поддержано грантами РФФИ  
15-04-06991-а и 16-34-01049 мол\_а.

## Сравнительный анализ экспрессии 84 микроРНК в различных фракциях мочи здоровых доноров и больных раком предстательной железы

О.Е. Брызгунова<sup>1,2</sup>, И.А. Запоржченко<sup>1,2</sup>, Е.А. Лехнов<sup>1,2</sup>,  
М.Ю. Коношенко<sup>1,2</sup>, И.Д. Осипов<sup>1</sup>, М.М. Зарипов<sup>3</sup>,  
С.В. Ярмошук<sup>2</sup>, О.А. Пашковская<sup>2</sup>, Ю.Б. Юрченко<sup>4</sup>,  
Е.Ю. Рыкова<sup>1,2</sup>, П.П. Лактионов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск;

<sup>2</sup>Сибирский федеральный биомедицинский исследовательский центр им. акад. Е.Н. Мешалкина, Новосибирск;

<sup>3</sup>ФГБУЗ «Сибирский окружной медицинский центр ФМБА России»; Новосибирск;

<sup>4</sup>Центр новых медицинских технологий, Новосибирск

**Введение.** Рекомендации Специальной комиссии по медицинской службе США (USPSTF) против использования раннего маркера РПЖ ПСА и инициированные ими исследования PLCO и EPSPC демонстрируют, что в клинике требуется эффективный скрининговый тест на РПЖ. Одним из вариантов скрининговой диагностики РПЖ может быть анализ концентраций микроРНК-маркеров в биологических жидкостях организма. Поскольку микроРНК могут быть упакованы в микрочастицы или циркулировать в биологических жидкостях в виде нуклеопротеиновых комплексов и их упаковка определяется функциональным статусом родительских клеток, фракционирование комплексов, переносящих микроРНК, может позволить увеличить концентрацию и относительное содержание микроРНК опухолевых клеток.

**Задачи исследования.** Разработка метода диагностики РПЖ, основанного на анализе экспрессии микроРНК в составе микрочастиц и/или нуклеопротеиновых комплексов мочи.

**Материалы и методы.** Ранее нами были охарактеризованы везикулы мочи и показана диагностическая перспективность содержащихся в них микроРНК (О.Е. Bryzgunova et al. PLoS One, 2016). Микрочастицы мочи здоровых мужчин, больных доброкачественной

гиперплазией предстательной железы и РПЖ, выделяли ультрацентрифугированием. Для выделения микроРНК из фракций мочи (бесклеточной (после 17 000g) и микрочастиц) были использованы ранее разработанные протоколы (Е.А. Lekchnov et al. Anal Biochem, 2016). В настоящем исследовании проведен сравнительный анализ экспрессии 84 микроРНК в парных образцах микровезикул и супернатанта мочи здоровых доноров и больных с онкологическими заболеваниями предстательной железы на платформе miRCURY LNA miRNA qPCR Panels (Exiqon, Дания). Она основана на количественных ПЦР с использованием LNA олигонуклеотидных праймеров и позволяет получать количественные данные об экспрессии включенных в панель микроРНК.

**Результаты и выводы.** Во всех группах доноров найдены наборы микроРНК, экспрессия которых достоверно различалась между фракциями. По характеру экспрессии выделены 2 группы микроРНК, проанализированы их мишени, обнаружено их участие в ряде сигнальных путей, в том числе связанных с патогенезом РПЖ.

После биоинформационной обработки полученных данных выбраны 13 диагностически значимых микроРНК и разработаны диагностические алгоритмы, которые на основании данных об экспрессии микроРНК в моче пациентов, полученных с использованием 8 аналитических систем, позволяют выявлять пациентов с диагнозом РПЖ со специфичностью 100 % и чувствительностью не менее 80 %.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 16-15-00124.*

## Анализ соматических мутаций у больных меланомой с помощью биологических микрочипов

М.А. Емельянова<sup>1,2</sup>, Л.Г. Гукасян<sup>1</sup>, И.С. Абрамов<sup>1,2</sup>,  
О.О. Рябая<sup>2</sup>, Е.В. Степанова<sup>2</sup>, А.В. Кудрявцева<sup>1,3</sup>,  
А.Ф. Аюпова<sup>1,3</sup>, Ч.А. Джумакова<sup>2</sup>, Т.С. Бельшева<sup>2</sup>,  
Л.Н. Любченко<sup>2</sup>, А.С. Заседателев<sup>1,2</sup>, Т.В. Наседкина<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup> ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

<sup>3</sup> Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России

Для лечения неоперабельной и метастатической меланомы используются таргетные ингибиторы, эффективность которых зависит от генотипа опухоли. Был разработан диагностический биочип, позволяющий выявлять 39 наиболее частых клинически значимых соматических мутаций в генах *BRAF*, *NRAS*, *KIT*, *GNAQ*, *GNA11*, *MAP2K1* и *MAP2K2*, наличие которых

определяет чувствительность/устойчивость опухоли к той или иной таргетной терапии.

Для преимущественной амплификации мутантных последовательностей генов в присутствии избытка ДНК дикого типа использовали мультиплексную LNA-блокирующую ПЦР. Полученные ПЦР-продукты использовались в качестве матрицы на 2-м этапе ПЦР, в результате которого получали одноцепочечные флуоресцентно меченные ампликоны. Затем их гибридизовали с аллель-специфичными зондами, иммобилизованными на биочипе. Данный метод позволяет выявлять соматическую мутацию, если ее доля в анализируемом образце от 0,5 % и более.

Метод был валидирован на 253 клинических образцах меланомы. Мутации в гене *BRAF* были обнаружены в 129 (51,0 %) образцах, в гене *NRAS* – в 45 (17,8 %) образцах, *KIT* – в 6 (2,4 %), *GNAQ* – в 4 (1,6 %), *GNA11* – в 2 (0,8 %) и *MAP2K1* – в 2 (0,8 %) случаях. Мутации в гене *MAP2K2* обнаружены не были. Результаты, полученные с помощью биочипов, сопоставлены с данными, полученными с помощью секвенирования по Сэнгеру, высокопроизводительного секвенирования и технологии ARMS/Scorpion ПЦР в реальном времени. Образцы, в которых выявлено расхождение результатов между методами, были подвергнуты LNA-блокирующей ПЦР с последующим секвенированием по Сэнгеру. В подавляющем большинстве случаев данный анализ подтвердил результаты, полученные с помощью биологических микрочипов. В нескольких случаях были выявлены редкие соматические мутации, зонды к которым на биочипе не представлены.

В данном исследовании продемонстрировано, что разработанный биочип является надежным инструментом анализа и может быть использован для выбора таргетной терапии.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 14-35-00107.*

## Анализ профиля экспрессии генов при доброкачественной и злокачественной патологии толстой кишки

М.В. Захаренко, И.Б. Грунин, А.Л. Сенчукова,  
Т.М. Кулинич, Я.Ю. Киселева, У.С. Станоевич,  
Е.Л. Джикия, Д.А. Буйнова, В.К. Боженко  
ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиологии»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** Колоректальный рак (КРР) – одна из наиболее часто встречающихся нозологий в онкологии. Исследование молекулярных изменений, происходящих в ткани опухоли, а также различных участках морфологически неизменной ткани при злокачественных и доброкачественных новообразованиях толстой кишки (ТК) представляет как теоретический интерес

для оценки «эффекта свидетеля» при этой патологии, так и, вероятно, практическую ценность для диагностики КРР.

**Задачи исследования.** Анализ профиля экспрессии генов в ткани опухоли и различных участках морфологически неизменной ткани ТК при злокачественных и доброкачественных новообразованиях.

**Материалы и методы.** Методом ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени проведено исследование экспрессии 45 генов-маркеров, ответственных за регуляцию апоптоза, пролиферацию, межклеточные взаимодействия и иммунный ответ. Проведен анализ 211 образцов ткани КРР и неизменной ткани кишки (край резекции). Образцы тканей ТК были также получены при проведении диагностической колоноскопии у пациентов с КРР ( $n = 11$ ), с полипами – группа «полип» ( $n = 9$ ) и пациентов без патологии ТК – «норма» ( $n = 17$ ). Для каждого пациента проводили биопсию подотделов ободочной кишки (восходящей, поперечной, нисходящей, сигмовидной) и прямой кишки (ПК). Для внутригруппового и межгруппового сравнения уровня экспрессии мРНК в различных отделах ТК использовали параметрические и непараметрические тесты в программе Stat Soft Statistica 10. Экспрессию выражали в относительных единицах (о. е.) после нормировки с использованием генов *GUSB*, *HPRT1* и *B2M*.

**Результаты.** При внутригрупповом сравнении получены статистически достоверные отличия уровня экспрессии 14 исследованных генов ткани ПК от тканей подотделов ободочной кишки. Между подотделами ободочной кишки достоверных различий не выявлено.

При межгрупповом сравнении также обнаружены статистически достоверные изменения профиля экспрессии в тканях ПК: в сравнении с «нормой» группа КРР характеризовалась снижением экспрессии генов *NDRG1*, *SCUBE*, *GPLY*, *IGF1*, *IGF2*, *MMP2*, *IL-12a* и увеличением экспрессии генов *BCL2*, *PTEN*, *IL-8*, а группа «полип» – снижением экспрессии генов *IL8*, *GPLY*, *COX-2*. При сравнении образцов ПК группы КРР с группами «полип» и «норма» выявлены 2 гена – *IL-8* и *GPLY*, ответственные за иммунный ответ и имеющие достоверные отличия уровней экспрессии. Причем для гена *GPLY* показано достоверное снижение экспрессии в ряду «норма» – «полип» – КРР (15,2 → 12,1 → 10,9 о. е.).

**Выводы.** Обнаруженные изменения уровней экспрессии ряда генов в тканях ТК у пациентов с различной патологией ТК подтверждают наличие молекулярных изменений в тканях пораженного органа, отдаленных от опухоли. Полученные результаты указывают на принципиальную возможность использования анализа профиля экспрессии генов в нормальных отделах толстого кишечника для ранней диагностики КРР.

## Исследование феномена потери гетерозиготности в генах *BRCA1* и *BRCA2* у пациентов, больных раком яичников

А.А. Кечин<sup>1,2</sup>, У.А. Боярских<sup>2</sup>, Н.А. Ермоленко<sup>2</sup>, А.С. Тюляндина<sup>3</sup>, Д.Г. Лазарева<sup>4,5</sup>, А.М. Авдалян<sup>4,5</sup>, Н.Е. Кушлинский<sup>3</sup>, М.Л. Филипенко<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Новосибирский государственный университет, Новосибирск;

<sup>2</sup> ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск;

<sup>3</sup> ФГБУ «НМИЦ им. Н.Н. Блохина», Москва;

<sup>4</sup> Алтайский филиал «НМИЦ им. Н.Н. Блохина», Барнаул;

<sup>5</sup> КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер», Барнаул

Выявление клинически значимых вариантов в генах *BRCA1* и *BRCA2* имеет высокое значение для диагностики и лечения больных РМЖ и раком яичников. Клиническое значение могут иметь такие события в геноме, как однонуклеотидные замены (SNV), инсерции и делеции, крупные перестройки (CNV), а также потеря гетерозиготности (LOH). События последнего типа позволяют выявить пациентов с герминальными мутациями в генах *BRCA1/2*, для которых таргетное лечение может быть неэффективным. Кроме того, некоторые исследователи считают, что наличие LOH может быть показателем клинического значения какого-либо варианта.

Целью нашей работы стало исследование распространенности и природы LOH в образцах опухоли рака яичников, несущих или не несущих вариант, имеющий клиническое значение. Для этого была определена полная кодирующая последовательность генов *BRCA1/2* в 30 парах образцов ДНК, выделенных из клеток крови и парафиновых гистологических блоков пациентов на приборе MiSeq Illumina. Используя разработанные нами программы (cutPrimers, BRCA-analyzer и программу выявления CNV), мы выявили 6 герминальных (20 %) и 3 соматических (10 %) клинически значимых точечных и коротких вариантов, а также 8 соматических CNV (3 делеции и 5 дупликаций нескольких или всех экзонов гена *BRCA1*). LOH была выявлена у 70 % пациентов, среди несущих клинически значимые варианты – у 83 %. Процент прочтений с альтернативным аллелем увеличивался чаще для клинически значимых вариантов, чем для нейтральных вариантов, расположенных в другом гене либо обнаруженных у других пациентов (67 % против 44 %). Однако разница оказалась статистически незначимой, что может быть связано с небольшим размером выборки пациентов. Построив совмещенные карты районов CNV и LOH, только в 3 случаях (14 %) из 21 можно было объяснить потерю гетерозиготности наличием CNV. В остальных случаях, по-видимому, LOH является

результатом генной конверсии, однако необходимо дальнейшее исследование.

## Особенности экспрессии матриксинов в зависимости от локализации плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта

Е.В. Кочурова, А.А. Муханов

ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова»  
Минздрава России

**Введение.** Использование слюны (ротовой жидкости) как материала для раннего определения и дифференциации заболеваний полости рта является одной из наиболее актуальных тем неинвазивной молекулярной диагностики в современной стоматологии.

**Задачи исследования.** Анализ уровня матриксинов в слюне пациентов с плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта в зависимости от локализации патологии.

**Материалы и методы.** Исследование 53 пациентов с плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта в возрасте от 39 до 88 лет без отдаленного метастазирования, сочетанной онкопатологии или отягощенного общесоматического анамнеза проводили в клиниках и лабораториях Первого МГМУ им. И.М. Сеченова. Критериями исключения являлись отказ от участия в исследовании, пациенты в возрасте до 18 или после 88 лет, женщины в период беременности и лактации.

**Результаты.** Определение содержания в ротовой жидкости матриксных металлопротеиназ (ММП, нг/мл) и их ингибиторов (ТИМП, нг/мл) в зависимости от пораженной локализации показало следующее: опухоль на языке показывает: уровень ММП 2—12,99 ± 3,24, ММП 8—1644,98 ± 378,12, ММП 9—1246,97 ± 249,2, ТИМП 1—383,76 ± 76,6, ТИМП 2—52,08 ± 11,44. Онкопатология на слизистой оболочке щеки показывает: уровень ММП 2—7 ± 1,54, ММП 8—1332,22 ± 333, ММП 9—783,17 ± 156,6, ТИМП 1—251,67 ± 62,07, ТИМП 2—31,47 ± 7,75. Поражение дна полости рта показывает: уровень ММП 2—8,74 ± 2,18, ММП 8—1634,27 ± 392,16, ММП 9—1142,83 ± 285,5, ТИМП 1—418,26 ± 101,15, ТИМП 2—38,83 ± 8,36. Поражение альвеолярного отростка челюсти показывает: уровень ММП 2—12 ± 2,8, ММП 8—893,07 ± 214,32, ММП 9—463,85 ± 101,86, ТИМП 1—230,62 ± 52,9, ТИМП 2—31,80 ± 6,87. Вовлечение в процесс ротогортаноглотки показывает: уровень ММП 2—5,25 ± 1,21, ММП 8—720,82 ± 165,6, ММП 9—643,55 ± 128,6, ТИМП 1—331,16 ± 331,23, ТИМП 2—32,32 ± 7,8.

**Выводы.** Таким образом, корреляционный анализ данных экспрессии матриксинов ротовой жидкости

у пациентов с плоскоклеточным раком слизистой оболочки полости рта показал пиковые значения при поражении языка или дна полости рта, что может быть связано с гиперактивностью слюнных желез вследствие онкологической интоксикации.

## Применение клеточных биочипов для диагностики острых лейкозов

С.А. Кузнецова<sup>1,2</sup>, А.О. Закирова<sup>1</sup>, О.С. Федянина<sup>1,2</sup>,  
А.Е. Задорожная<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»  
Минздрава России;

<sup>2</sup>ФГБУН Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва;

<sup>3</sup>физический факультет ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова»

Диагностика острых лейкозов основывается на анализе популяции лейкоцитарных предшественников, выделяемой по уровню экспрессии CD45 и боковому светорассеянию, для определения экспрессии на них линиеспецифических маркеров в сочетании с морфологическим и цитохимическим анализом. Для параллельного определения морфологии или цитохимии и иммунофенотипа опухолевых клеток нашей группой разработан клеточный биочип — прозрачная пластиковая подложка с иммобилизованными на ней антителами к поверхностным дифференцировочным антигенам лейкоцитов. Биочип используется для предварительной сортировки клеток перед исследованием их морфологии или цитохимии.

На основании исследования мононуклеарных клеток 90 пациентов с острыми лейкозами, 17 пациентов с хроническими лейкозами и 40 здоровых доноров с помощью клеточного биочипа мы показали, что определение количества бластов, связавшихся на биочипе с антителом к CD45RA, позволяет определить наличие острого лейкоза у пациентов с чувствительностью 90 % и специфичностью 95 %. Мы также разработали способ определения линейности острого лейкоза на основании связывания клеток с бластной морфологией на антителах к CD11b, CD11c, CD13, CD15, CD33, CD117 и CD10, CD19, CD22, позволяющий определить миелобластный лейкоз с чувствительностью не менее 90 и 100 % специфичностью и В-лимфобластный лейкоз с чувствительностью 95 % и 100 % специфичностью. Предложенный метод определения наличия и линейности острых лейкозов может быть в дальнейшем использован для разработки метода дифференциальной диагностики острых лейкозов с помощью биочипа.

*Работа частично поддержана грантами РФФИ  
16-34-01030 и 16-04-00282.*

## Диагностические возможности молекулярного Пап-теста у женщин в постменопаузе

Н.В. Мельникова, М.В. Захаренко, Н.Ю. Яровая,  
И.Б. Антонова, Н.А. Бабаева, Н.А. Болотина,  
А.Л. Сенчукова, Н.Б. Аكوпова, Л.А. Ашрафян, В.К. Боженко  
ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** В практике цитологического исследования Пап-теста доля ложноотрицательных заключений в группе женщин, находящихся в постменопаузе, выше в сравнении с результатами женщин репродуктивного периода. Разработка новых методик диагностики предраковой патологии шейки матки по материалу жидкостной цитологии на основе изучения экспрессии молекулярно-биологических маркеров позиционируется как молекулярный мазок по Папаниколау и является актуальной задачей современной онкологии.

**Задачи исследования.** Изучение возможностей дифференциальной диагностики CIN 2+ и CIN1 или менее у пациенток в постменопаузе на основе оценки экспрессии 24-генной панели мРНК методом количественной ПЦР в материале консервирующей жидкости Пап-теста CellPrep.

**Материалы и методы.** Уровень экспрессии мРНК 24 генов (*Ki-67, STK-15, CCNB1, CCND1, MYC, MYBL2, P16INK4A, PTEN, BIRC5, BCL2, BAG1, TERT, NDRG1, ESRI, PGR, HER2, GRB7, MGB1, MMP11, CTS2, CD68* и 3 хаускипингов: *GUSB, HPRT1, B2M*) определяли методом количественной ПЦР с использованием наборов ООО «ДНК-Технология» в материале консервирующей жидкости флакона после Пап-теста CellPrep (Biodyne Co., LTD, Корея) у 30 пациенток в постменопаузе, проходивших лечение в РНЦРР в 2015–2017 гг. Критерием достоверности были результаты сопоставления с последующим гистологическим исследованием. Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием метода дискриминантного анализа.

**Результаты.** По данным дискриминантного анализа показана возможность правильной классификации на основе сочетанной оценки уровней экспрессии мРНК 21 гена для пациенток в постменопаузе с гистологически подтвержденными изменениями CIN 2+ и CIN1 или менее в 100 % случаев. Информативную панель можно сократить до 10 генов без потери диагностической эффективности для группы CIN1 (или неизмененный эпителий/доброкачественные изменения). Процент правильной классификации для группы CIN 2+ в этом случае составил 93,33 % случаев. Наибольшее значение для правильности классификации имеет оценка мРНК экспрессии гена *ESRI*. Минимальный уровень экспрессии рецепторов эстрогена характерен для группы CIN2+.

**Выводы.** Оценка экспрессионного профиля 21 гена по материалу консервирующей жидкости флакона Пап-теста CellPrep позволяет дифференцировать 2 клинически важные группы: CIN 2+ и CIN1 или менее у пациенток в постменопаузе и может дополнять морфологическую диагностику предраковых процессов и рака шейки матки.

## Аденозиндезаминаза – универсальный маркер жизнеспособности клеток крови

К.А. Миронова

Донецкий национальный медицинский университет  
им. Максима Горького

**Введение.** В патогенезе злокачественного опухолевого роста существенное влияние имеют анемия и функциональная активность клеток системы иммунитета. С нарушениями структурно-функционального состояния эритроцитарной мембраны, кроме развития анемии, связывают изменения некоторых показателей иммунной системы организма. Супрессирующее влияние на функции иммунокомпетентных клеток связывают с выделением опухолью различных факторов. Один из них – аденозин, уровень которого регулируется активностью аденозиндезаминазы (АДА, КФ 3.5.4.4). Резкое снижение активности АДА может приводить к нарушению функций Т- и В-клеток.

**Задачи исследования.** Изучение взаимосвязи между нарушением гомеостаза аденозина в лимфоцитах и эритроцитах крови и изменением функционального состояния мембран этих клеток у больных раком легких (РЛ) с I–IV стадией заболевания.

**Результаты и обсуждение.** Установлено одностороннее снижение активности АДА во всех клетках крови у больных РЛ, в эритроцитах – в 2,3 раза ( $12,8 \pm 1,7$  нмоль/мин\*мг белка и  $5,5 \pm 0,9$  нмоль/мин\*мг белка;  $p < 0,001$ ), в лимфоцитах – в 2,2 раза ( $52,1 \pm 6,7$  нмоль/мин на  $10^6$  клеток и  $23,5 \pm 3,9$  нмоль/мин на  $10^6$  клеток;  $p < 0,001$ ). Снижение активности АДА в клетках крови при РЛ сопровождается повышением уровня аденозина ( $0,070 \pm 0,002$  моль/л;  $0,096 \pm 0,003$  моль/л;  $p < 0,001$ ). Активность АДА зависит от стадии заболевания ( $R_0 = -0,610$ ,  $p < 0,01$ ). На поздних стадиях РЛ энзим достоверно и односторонне снижался в эритроцитах (в 2 раза) и лимфоцитах (в 1,5 раза). Снижение активности АДА в лимфоцитах и эритроцитах больных РЛ коррелировало с ухудшением функциональных показателей плазмолеммы клеток крови ( $R = -0,806$ ,  $p = 0,009$  и  $R = -0,522$ ,  $p = 0,03$ ), о чем свидетельствовало повышение удельного веса нежизнеспособных лимфоцитов на 38 % ( $p < 0,001$ ) и сорбционной способности эритроцитов у больных РЛ ( $33,5 \pm 4,0$  % и  $45 \pm 5$  %;  $p = 0,001$ ).

**Выводы.** Ведущим фактором патогенеза синдрома старения эритрона, лимфоцитарной дисфункции

является мембранная дисфункция. Нарушения функционального состояния гликокаликса сопровождаются дисметаболическими процессами, влекущими за собой развитие их дисфункции при РЛ.

## Увеличение чувствительности клеток меланомы к цисплатину путем снижения уровня экспрессии гена *PRAME*

В.А. Мисюрин<sup>1</sup>, Д.В. Калениченко<sup>2</sup>, А.А. Рудакова<sup>1</sup>,  
Н.А. Лыжко<sup>1</sup>, Ю.П. Финашутина<sup>1</sup>, О.С. Бурова<sup>1</sup>,  
М.А. Барышникова<sup>1</sup>, А.В. Мисюрин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Московская государственная академия  
ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина»

**Введение.** Согласно ряду данных, экспрессия гена *PRAME* придает опухолевой клетке ряд преимуществ, одним из которых является резистентность к химиопрепаратам. Применение препарата бортезомиб при множественной миеломе позволяет улучшить результаты терапии, особенно у больных с *PRAME*-экспрессией. Мы предполагаем, что бортезомиб способен снижать уровень экспрессии *PRAME*, благодаря чему опухолевая клетка становится более чувствительной к ХТ.

**Задачи исследования.** Увеличить цитотоксическую эффективность цисплатина путем бортезомибзависимого снижения уровня экспрессии гена *PRAME* в клетках меланомы.

**Материалы и методы.** Использованы клеточная линия меланомы А873, цисплатин, бортезомиб, дексаметазон, МТТ-тест через сутки инкубирования с препаратами, RQ-PCR гена *PRAME*. Анализ количественных параметров цитотоксичности и экспрессии гена *PRAME* проводился при помощи критериев Уилкоксона и Манна–Уитни соответственно.

**Результаты.** IC50 для цисплатина и бортезомиба достигалась при концентрациях 25 и 50 мкг/мл соответственно. Установить значение IC50 для дексаметазона не удалось, так как данное соединение не показало цитотоксичности. При сочетании бортезомиба в концентрации 20 мкг/мл с цисплатином в различных концентрациях концентрация цисплатина, необходимого для гибели 50 % клеток линии А875, снизилась до 14 мкг/мл ( $p = 0,0076$ ). При сочетании дексаметазона в концентрации 100 мкг/мл и цисплатина в различных концентрациях IC50 достигалась при большей концентрации цисплатина в смеси — при 35 мкг/мл ( $p = 0,0179$ ). Интересно, что воздействие цисплатина и дексаметазона отдельно приводило к увеличению уровня экспрессии гена *PRAME* в 6,6 раза ( $p = 0,0279$ ) и 1,5 раза ( $p = 0,0357$ ) соответственно, а в сочетании друг с другом — в 9 раз ( $p = 0,0057$ ) по сравнению

с уровнем, наблюдаемым в клетках, ничем не обработанных. При инкубировании клеток А875 с бортезомибом уровень экспрессии *PRAME* практически не изменился ( $p = 0,5714$ ), но вырос в 4,6 раза ( $p = 0,0357$ ) после инкубирования клеток со смесью бортезомиба и цисплатина.

**Заключение.** При повышении уровня экспрессии гена *PRAME* опухолевая клетка становится менее чувствительной к химиопрепаратам. Применение дексаметазона при терапии больных с *PRAME*-экспрессией может ухудшить результат терапии. В то же время бортезомиб снижает уровень экспрессии *PRAME*, и клетка меланомы становится более чувствительной к цисплатину. Возможно, сочетание бортезомиба с цисплатином покажет высокую эффективность при терапии меланомы.

## Наследственная увеальная меланома: клинический случай

А.В. Семьянихина, М.Г. Филиппова, О.Н. Архипова,  
Л.Н. Любченко

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

Увеальная меланома (УМ) — самое частое первичное злокачественное новообразование увеального тракта с молекулярно-генетическими характеристиками, позволяющими отличать ее от других подтипов меланомы. Соматические мутации в опухоли при УМ вовлекают ряд генов — *BAP1*, *EIF1AX*, *GNA11*, *GNAQ* и *SF3B1* — и определяют биологию и поведение опухоли, являясь предикторами заболевания. Примерно в 2–5 % случаев УМ является наследственной патологией и ассоциирована с герминальными мутациями в генах, ответственных за тот или иной синдром. На сегодняшний день описано несколько таких синдромов, среди которых *BAP1*-ассоциированный синдром, FAMMM-синдром, синдром Ли–Фраумени и др.

**Клинический случай.** Пациентка Л., 62 лет, обратилась в научно-консультативное отделение ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в феврале 2016 г. с направительным диагнозом: меланома хориоидеи правого глаза. С учетом онкологически отягощенного семейного анамнеза больная была направлена на медико-генетическое консультирование в лабораторию клинической онкогенетики. При сборе семейного анамнеза отмечено, что 73-летней сестре пациентки проводилось лечение по поводу УМ левого глаза в возрасте 63 лет, а 67-летний брат больной оперирован в связи с диагнозом рака почки в возрасте 52 лет. Также в семье наблюдались случаи рака поджелудочной железы и женских половых органов с отцовской стороны. С учетом семейного анамнеза, клинико-диагностических данных для исключения/подтверждения наследственной этиологии заболевания на первом этапе было принято решение

выполнить пациентке молекулярно-генетическое исследование с целью поиска герминальных мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2* и *CHEK2*. В результате ДНК-тестирования в экзоне 5 гена *CHEK2* выявлена герминальная миссенс-мутация с. 470Т/С (р. Ле157Тhr) в гетерозиготном состоянии, зарегистрированная в международной базе данных *dbSNP* (*rs17879961*) как клинически значимый патогенный вариант. Выявленная патогенная мутация в гене *CHEK2*, которая была подтверждена и у сестры пациентки, ранее описана как этиологический фактор развития УМ в составе синдрома Ли–Фраумени и Ли–Фраумени-подобного синдрома. В настоящее время пациентка находится под динамическим наблюдением.

УМ, являясь редким онкологическим заболеванием и еще реже – наследственно-обусловленным, остается малоизученной на сегодняшний день. Для полноты понимания молекулярно-биологической природы этого заболевания необходимы дальнейшие многоцентровые исследования с расширением выборки больных и привлечением возможностей современных методов ДНК-диагностики.

## Оценка мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток из жировой ткани в аспекте безопасности процедуры липофилинга для онкологических пациентов

Н.С. Сергеева<sup>1,2</sup>, Н.Н. Волченко<sup>1</sup>, И.А. Замулаева<sup>3</sup>,  
И.К. Свиридова<sup>1</sup>, П.А. Каралкин<sup>1</sup>, С.А. Ахмедова<sup>1</sup>,  
Е.И. Селиванова<sup>3</sup>, Е.Н. Славнова<sup>1</sup>, В.А. Кирсанова<sup>1</sup>,  
Я.Д. Шанский<sup>1</sup>, А.Д. Зикирходжаев<sup>1</sup>

<sup>1</sup> МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва;

<sup>3</sup> МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва

В последнее десятилетие в реконструктивно-пластической хирургии молочной железы широко используется процедура липофилинга – самостоятельно или в сочетании с периодическими инъекциями аутологичной культуры мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) из жировой ткани (ЖТ). Для онкологических пациентов использование такого подхода спорно в силу опасности стимуляции dormantных опухолевых клеток в организме пациента.

Цель настоящего исследования – сравнительный анализ культур ММСК, полученных из стромально-васкулярной фракции ЖТ условно здоровых доноров ( $n = 5$ ) и больных РМЖ I–II стадии ( $n = 5$ ). У больных РМЖ ЖТ была взята из подлопаточной области в процессе оперативного вмешательства. На этапах культивирования исследовали морфофенотип ММСК, их

пролиферативную активность (иммуноцитохимический метод), экспрессию поверхностных маркеров (проточная цитометрия), способность к колониеобразованию и пластичность. Дополнительно с помощью иммуноцитохимического метода оценивали экспрессию общего цитокератина, цитокератина 7, виментина, гладкомышечного актина, E- и N-кадгерина.

Обнаружено, что по морфологии и функциональным свойствам культуры ММСК из ЖТ доноров и больных РМЖ не отличались. Лишь в 1 случае (больная РМЖ И.) исходно фибробластоподобные CD90+ и CD105+ клетки на 4-м пассаже практически полностью замещались агрессивным клоном кубоидальных клеток с крупным плотным центрально расположенным ядром. Эти клетки имели высокий пролиферативный потенциал, эпителиальный фенотип и после перевивки самкам иммунодефицитных мышей BALB/c вызывали образование у животных опухолей, гистологически идентичных РМЖ пациентки И. Полученные результаты обсуждаются с точки зрения потенциально возможного присутствия в стромально-васкулярной фракции ЖТ больных РМЖ dormantных опухолевых клеток и безопасности процедуры липофилинга у больных РМЖ.

## Выделение и биохимический анализ тканеспецифичных экзосом – метод диагностики и мониторинга онкологических заболеваний

Т.А. Штам<sup>1,2,3</sup>, Р.Б. Самсонов<sup>1,2</sup>, А.А. Ковальчук<sup>1</sup>,  
Л.М. Забегина<sup>1</sup>, А.В. Малек<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова», Санкт-Петербург;

<sup>2</sup> ООО «Онкосистема», Санкт-Петербург;

<sup>3</sup> НИЦ «Курчатовский институт» – ФГБУ ПИЯФ им. Б.П. Константинова, Гатчина, Ленинградская область

Проблема своевременной диагностики онкологических заболеваний сохраняет свою научную и социальную актуальность. Кроме того, разработка и внедрение в клиническую практику новых эффективных методов системной терапии онкологических заболеваний определяет актуальность разработки методов мониторинга опухолевой прогрессии на фоне проводимого лечения. Сегодня в клинической практике широко используются молекулярные онкомаркеры (PSA, CA-125), которые, по сути, не являются маркерами неопластической трансформации, а представляют собой тканеспецифичные молекулы (белки или гликопротеины). Повышение их концентрации в циркулирующей плазме может коррелировать с патологической пролиферацией (инвазивным ростом) определенных тканей. Низкая специфичность таких маркеров определяется природой процесса неопластической трансформации, предполагающей искажение/снижение

степени дифференциации и изменение профиля экспрессии тканеспецифичных белков. В настоящее время активно исследуется возможность использования циркулирующих нуклеиновых кислот (DNA, miRNA, circRNA) в качестве онкомаркеров, но такие маркеры могут «отражать» факт неопластической трансформации (в виде мутаций, например), и они не несут информации о тканевой принадлежности трансформированных клеток. Решение проблемы интуитивно угадывается в использовании комплексных мультимолекулярных маркеров, которые должны отвечать ряду требований. Во-первых, содержать информацию о тканевой принадлежности и опухолевом потенциале клеток-продуцентов, т. е. иметь в своем составе белковые компоненты и нуклеиновые кислоты. Во-вторых, иметь достаточный период циркуляции, быть биологически и физически стабильными. В-третьих, анализ таких маркеров потенциально должен быть воспроизводим в условиях рутинной работы клинической лаборатории.

Перечисленным требованиям могут удовлетворять мембранные микровезикулы, секретируемые клетками различных типов в межклеточное пространство. Как известно, клетки секретируют различные типы микровезикул, отличающихся по размеру, составу, биогенезу и, вероятно, биологическим функциям. Среди различных везикул наиболее полно изучены так назы-

ваемые экзосомы, образование которых происходит путем формирования и «рилизинга» мультивезикулярных телец. Считается, что все (или большинство) типов клеток продуцируют экзосомы, этот процесс может иметь конститутивный или индуцированный характер. Например, гипоксия или клеточная миграция сопровождаются активацией секреции экзосом. В ряде исследований было показано, что неопластическая трансформация сочетается с активацией продукции клетками экзосом, но имеет ли этот феномен общий характер, пока не ясно. Циркулирующая плазма содержит экзосомы, секретируемые преимущественно клетками крови и эндотелиоцитами. Логично предположить, что неопластическая трансформация клеток определенной ткани приведет к появлению в плазме экзосом, несущих тканеспецифичные белковые маркеры и онкоспецифичные нуклеиновые кислоты (или их онкоспецифичное сочетание).

Мы проверили эту гипотезу относительно ряда онкологических заболеваний: РПЖ, рака щитовидной железы и колоректального рака. Полученные результаты показали целесообразность данного подхода, в частности, изоляция из плазмы PSMA+/CD+ везикул и последующий анализ 8 микроРНК в их составе могут послужить основой для разработки перспективного метода диагностики/мониторинга РПЖ.

## Постеры

### Поиск потенциальных маркеров чувствительности клеток рака яичника к химиотерапии

К.В. Гавриш, Р.Г. Киямова

Казанский федеральный университет

**Введение.** Среди гинекологических заболеваний рак яичника (РЯ) лидирует по смертности больных, что связано с различным ответом пациентов на терапию, развитием резистентности и поздней диагностикой. Одной из причин различной чувствительности является молекулярная гетерогенность опухолей, а именно уникальная совокупность мутаций, изменений числа копий (ЧК) генов и пр. За последние годы показано, что одними из белков, вызывающих резистентность, являются АВС-транспортёры, однако попытки разработки направленной терапии не увенчались успехом из-за высокой токсичности их ингибиторов. Другим подходом, способным улучшить эффективность лечения РЯ, является поиск потенциальных предиктивных маркеров, позволяющих предсказать ответ пациента на терапию и подобрать оптимальную схему лечения.

**Задачи исследования.** Определение взаимосвязи чувствительности клеточных линий (КЛ) РЯ с изменениями ЧК генов АВС-транспортёров подсемейства А.

**Материалы и методы.** Между группами КЛ РЯ, различающимися по ЧК генов *ABCA1*, *ABCA2*, *ABCA3*, *ABCA4*, *ABCA5*, *ABCA6*, *ABCA7*, *ABCA8*, *ABCA9*, *ABCA10*, *ABCA11P*, *ABCA12*, *ABCA13*, *ABCA17P* (низкое ЧК  $\log_2 < -0.3$ ; высокое ЧК  $\log_2 > 0.3$ ), проводилось сравнение чувствительности к цисплатину, доцетакселу, эпопсиду, гемцитабину, иринотекану и винорелбину методом Манна–Уитни–Уилкоксона. Для анализа использованы данные по изменению ЧК 14 генов в КЛ РЯ, представленные в базе данных Cancer Cell Lines Encyclopedia (<https://portals.broadinstitute.org>), и значения IC50 КЛ РЯ для 6 препаратов, представленные на портале Genomics of Drug Sensitivity in Cancer (<http://www.cancerxgene.org>). Все расчеты проводились в RStudio.

**Результаты.** Показано, что КЛ РЯ с низким ЧК генов *ABCA1* (p-value = 0,006), *ABCA2* (p-value = 0,006), *ABCA12* (p-value = 0,005) и высоким ЧК гена *ABCA2* (p-value = 0,009) более чувствительны к доцетакселу. Обратное было верно для низкого ЧК гена *ABCA7* (p-value = 0,02). КЛ РЯ с низким ЧК гена *ABCA1* (p-value = 0,02) оказались более чувствительны к иринотекану, с низким ЧК генов *ABCA11P* (p-value = 0,03) и *ABCA12* (p-value = 0,04) – к цисплатину, а с высоким

ЧК гена *ABCA2* – к гемцитабину (p-value = 0,03) и винорелбину (p-value = 0,01).

**Выводы.** Полученные результаты свидетельствуют о том, что гены *ABCA1*, *ABCA2*, *ABCA7*, *ABCA11P*, *ABCA12* являются потенциальными предиктивными маркерами РЯ и требуют дальнейшего изучения, что позволит глубже понять механизмы ответа опухоли на ХТ.

### Детекция мутаций в гене кальретикулина методом анализа кривой плавления у пациентов с миелопролиферативными заболеваниями

Л.А. Кесаева<sup>1</sup>, Ю.П. Финашутина<sup>1</sup>, В.В. Тихонова<sup>1</sup>,  
О.Н. Солопова<sup>1</sup>, Е.Н. Мисюрин<sup>2</sup>, А.В. Мисюрин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ГБУЗ «ГКБ № 52 Департамента здравоохранения г. Москвы»

**Введение.** Соматические мутации в экзоне 9 гена кальретикулина (*CALR*) имеют важное диагностическое и прогностическое значение для пациентов с эссенциальной тромбоцитемией и первичным миелофиброзом и рекомендуются в качестве обязательного анализа для Ph-негативных хронических миелопролиферативных заболеваний. Мутации экзона 9 гена *CALR* включают в себя инсерции, делеции и точечные мутации. Наиболее часто встречающиеся варианты – мутация 1-го типа – с. 1092\_1143del и мутация 2-го типа – с. 1154\_1155insTTGTС. Эти мутации могут быть легко идентифицированы с помощью стандартных методов молекулярной диагностики во многих случаях, но при низкой аллельной нагрузке возрастает риск ложноотрицательных результатов.

**Задачи исследования.** Разработать быстрый и чувствительный метод детекции основных мутаций в экзоне 9 гена *CALR*.

**Материалы и методы.** Из гранулоцитов периферической крови 120 пациентов с предварительными диагнозами эссенциальной тромбоцитемии или первичного миелофиброза была выделена ДНК. Наличие мутаций гена *CALR* исследовалось с помощью ПЦР с электрофоретической детекцией, секвенирования по Сэнгеру и HRM-анализа (анализ кривой плавления ПЦР-продуктов).

**Результаты.** В 21 из 120 образцов ДНК методом HRM-анализа обнаружены отличия кривой плавления от образцов здоровых доноров, не содержащих мутации. В числе этих 21 образца у 15 мутации 1-го и 2-го типа

экзона 9 гена *CALR* были подтверждены методом стандартной ПЦР и у 18 – методом секвенирования по Сэнгеру. У оставшихся 3 образцов, определенных как немутированные 2 методами, были проанализированы клонированные ПЦР-фрагменты, в результате чего у 2 была подтверждена мутация 2-го типа и у 1 – нетипичная инсерция. Таким образом, метод HRM-анализа выявил мутации гена *CALR* у 17,5 % (21/120) пациентов с эссенциальной тромбоцитемией и первичным миелофиброзом, что выше по сравнению с секвенированием по Сэнгеру – 15 % (18/120).

**Выводы.** На данный момент HRM-анализ является наиболее быстрым и чувствительным методом для скрининга основных клинически значимых мутаций гена *CALR*. Разработанный метод существенно улучшит дифференциальную диагностику Ph-негативных миелопролиферативных заболеваний.

## Молекулярно-генетическая характеристика острых лейкозов с t(10;11)(p12;q23) у детей

С.А. Лебедева<sup>1</sup>, Е.А. Зеркаленкова<sup>2</sup>, А.Н. Казакова<sup>2</sup>,  
О.И. Солдаткина<sup>2</sup>, Л.В. Земцова<sup>2</sup>, Н.М. Тимофеева<sup>2</sup>,  
П.Б. Барышев<sup>2</sup>, Ю.В. Ольшанская<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова»;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** Перестройки гена *KMT2A* (lysine methyltransferase 2A), расположенного в регионе 11q23, наблюдаются в 5–10 % случаев острых лейкозов (ОЛ) и чаще встречаются у детей. Для данного гена описано более 80 различных генов-партнеров, при этом достоверно известно, что от характера гена-партнера зависит прогноз выживаемости. Одним из частых партнеров гена *KMT2A* является ген *MLLT10*, локализованный в регионе 10p12, однако стоит отметить, что в этом же регионе расположены и более редкие партнеры. Транслокация t(10;11)(p12;q23) чаще встречается у детей и ассоциирована с неблагоприятным прогнозом. Ранее было показано, что локализация точки разрыва в *KMT2A* влияет на выживаемость у пациентов с ОЛ.

**Задачи исследования.** Анализ когорты пациентов детского возраста с ОЛ с транслокацией t(10;11)(p12;q23).

**Материалы и методы.** В исследование включено 22 пациента (10 мальчиков, 12 девочек) в возрасте от 5 мес до 15 лет (медиана возраста среди пациентов старше года – 6 лет) с *KMT2A*-положительными острыми миелоидными (ОМЛ) и лимфобластными (ОЛЛ) лейкозами. Диагноз ОМЛ и ОЛЛ установлен на основании цитохимических, иммунологических и морфологических критериев. Всем пациентам выполняли стандартное кариотипирование, перестройки *KMT2A* подтверждали флуоресцентной *in situ* гибридизацией (FISH). Природу гена-партнера определяли ПЦР

с обратной транскрипцией и длинной инвертированной ПЦР с последующим секвенированием по Сэнгеру, а также секвенированием нового поколения с использованием реагентов NEBNext® Ultra™ II.

**Результаты.** В проанализированной когорте пациентов частота ОМЛ составила 90,9 % ( $n = 20$ , преимущественно М5а-вариант) и ОЛЛ – 9,1 % ( $n = 2$ ). В рамках проводимого исследования точки разрыва *KMT2A* локализовались в интронах 9 ( $n = 12$ ), 10 ( $n = 8$ ) и 8 ( $n = 2$ ). Точки разрыва в интроне 11, характеризующиеся неблагоприятным прогнозом, в исследуемой когорте отсутствовали. Обращает на себя внимание высокая ранняя летальность в группе пациентов с локализацией точки разрыва в интроне 9 (33 %). Среднее содержание лейкоцитов при этом составило  $22,2 \cdot 10^9/\text{л}$ . В группе с локализацией точки разрыва в интроне 10 в течение первого года умерло 75 % пациентов, в основном из-за прогрессирования заболевания. Эта группа характеризуется инициальным гиперлейкоцитозом (среднее содержание лейкоцитов  $151,9 \cdot 10^9/\text{л}$ ). Общая выживаемость всей когорты составила 54,5 % при сроке наблюдения 1660 дней.

**Выводы.** Использованные вышеперечисленные методы позволяют с высокой точностью определить локализацию точки разрыва гена *KMT2A*, а также природу гена-партнера, что впоследствии может быть использовано для определения прогноза течения заболевания. Дальнейший сбор клинических данных позволит оценить влияние точки разрыва в ДНК гена *KMT2A* на прогноз и общую выживаемость у пациентов различных возрастных групп.

## Фармакогенетическое тестирование в терапии острых лимфобластных лейкозов

Т.С. Лисица<sup>1,2</sup>, А.Ю. Иконникова<sup>1</sup>, Е.В. Жуковская<sup>2</sup>,  
Т.В. Наседкина<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии  
им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава  
России, ЛРНЦ «Русское поле», Московская область

Острый лимфобластный лейкоз – самое частое онкологическое заболевание детского возраста. Современные стандарты лечения ОЛЛ включают длительную полихимиотерапию высокотоксичными препаратами. Известно, что полиморфизм генов системы биотрансформации, осуществляющей метаболизм лекарственных веществ, может приводить к повышению токсичности применяемой терапии.

С целью оценки вклада полиморфизма генов системы биотрансформации в формирование токсических эффектов противоопухолевой терапии проведено генотипирование 45 пациентов в возрасте от 4 до 18 лет, получавших терапию ОЛЛ. У 29 пациентов развились

клинически значимые осложнения (нейротоксичность, гепатотоксичность, кардиотоксичность). У 6 пациентов развились венозные тромбозы. Генотипирование проводили с использованием набора реагентов «ПФ-Биочип», который позволяет выявлять 17 аллельных вариантов в генах *CYP1A1*, *CYP2D6*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, *ABCB1*, *NAT2*, *MTHFR*, *TPMT*.

Достоверных различий между группами пациентов, у которых развилась лекарственная токсичность и перенесших лечение удовлетворительно, по исследованным маркерам не получено.

Пациентам с тромботическими осложнениями целесообразно исследование молекулярно-генетических маркеров в генах *VKORC1*, *CYP4F2*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, *ABCB1*, *ITGB3*, ассоциированных с изменением индивидуальной чувствительности к антикоагулянтам и антиагрегантам, в том числе к варфарину, клопидогрелу и аспирину, с целью индивидуализации терапии.

*Работа выполнена при поддержке Федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы» (соглашение № 14.604.21.0166, уникальный идентификатор проекта RFMEFI60417X0166).*

## ДНК-диагностика EGFR-мутации и ALK-транслокации у пациентов с раком легкого для проведения таргетного лечения

В.М. Сафронова, М.Г. Филиппова, Н.А. Козлов,  
Н.В. Кокосадзе, Л.Н. Любченко

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** Заболеваемость раком легкого в России, по последним данным, составляет 23,54 на 100 тыс. населения и находится на первом месте среди злокачественных новообразований, при этом более половины пациентов с немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) обращается за лечением на поздних стадиях. В ходе клинических испытаний выяснилось, что ключевую роль в эффективности ингибиторов *EGFR* играют точечные мутации в гене *EGFR*. 2–5 % НМРЛ составляет *ALK*-положительный немелкоклеточный рак. Анализ мутаций в гене *EGFR* и *ALK*-транслокации позволяет охарактеризовать молекулярные механизмы канцерогенеза, индивидуализировать лечебную и профилактическую тактику.

**Задачи исследования.** В лаборатории онкогенетики ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» провести скрининг соматических мутаций в гене *EGFR* и выявить *ALK*-транслокации в опухолях больных НМРЛ, которые проходят лечение и наблюдаются в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина».

**Материалы и методы.** Скрининг соматических мутаций в гене *EGFR* проводился на приборе Cobas z480, Roche, с использованием наборов Cobas® *EGFR* Mutation Test Roche, Cobas® *EGFR* Mutation Test Roche v. 2 и Cobas® DNA Sample Preparation Kit, Cobasv cfDNA Sample Preparation Kit. Скрининг *ALK*-транслокаций выполняли на автоматизированном иммуногистостейнере BenchMark GX, Ventana с использованием антитела VENTANA anti-*ALK* (D5F3). Всего за период с января 2016 г. по октябрь 2017 г. проведено тестирование 259 больных раком легкого (158 мужчин и 101 женщина) в возрасте от 9 до 80 лет.

**Результаты.** Мутации в гене *EGFR* обнаружены в 21,2 % образцов ( $n = 55$ ), из них 54,5 % женщины ( $n = 30$ ) и 45,5 % мужчины ( $n = 25$ ). В 58,2 % ( $n = 32$ ) встречается мутация в экзоне 19. У пациентов после 40 лет мутации обнаруживаются чаще. У 11 пациентов исследована плазма крови на выявление соматических мутаций в гене *EGFR*, мутации обнаружены в 18,2 % ( $n = 2$ ). *ALK*-транслокация выявлена в 7,1 % случаев ( $n = 16$ ). Среди пациентов с выявленной *ALK*-транслокацией 62,5 % женщины ( $n = 10$ ) и 37,5 % мужчины ( $n = 6$ ).

**Выводы.** Наши результаты соответствуют данным, ранее представленным российскими и международными исследованиями. Для повышения эффективности генетического скрининга необходимы дальнейшие исследования, в частности подбор условий работы с различными типами биологического материала: парафиновыми блоками, плазмой, цитологическими образцами.

## Анализ белка сурвивин в экстраклеточных везикулах и клетках немелкоклеточного рака легкого

Г.О. Скрыбин<sup>1,2</sup>, С.А. Галецкий<sup>1</sup>, А.В. Комельков<sup>1</sup>,  
Е.Г. Евтушенко<sup>2</sup>, А.Ф. Кецаба<sup>1</sup>, О.В. Ковалева<sup>1</sup>,  
М.Шогенов<sup>1</sup>, М.Е. Аксельрод<sup>1</sup>, Е.М. Чевкина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова»

**Введение.** Сурвивин (Vinc5) принадлежит к семейству антиапоптотических белков IAP и участвует в регуляции процессов, связанных с пролиферацией и клеточной гибелью. Высокий уровень его экспрессии выявлен в целом ряде опухолей. Его присутствие обнаружено и в экстраклеточных везикулах (ЭКВ) при некоторых онкопатологиях, включая РПЖ, причем уровень белка в ЭКВ плазмы больных коррелировал со стадией заболевания. Данные о наличии сурвивина в составе экзосом немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) в литературе отсутствуют.

**Задачи исследования.** Изучение представленности сурвивина в составе ЭКВ (экзосом и микровезикул),

секретируемых клетками НМРЛ в культуре, и в ЭКВ плазмы крови пациентов с НМРЛ, а также экспрессии сурвивина в образцах НМРЛ.

**Материалы и методы.** Анализ продукции сурвивина проводился методом иммуноблоттинга в экзосомах и микровезикулах клеток НМРЛ A549, H460, H1299; в образцах ЭКВ плазмы крови больных НМРЛ (10 образцов), а также в образцах опухолевой и условно нормальной ткани (30 образцов). ЭКВ из плазмы крови и кондиционированных сред выделяли методом дифференциального ультрацентрифугирования, образцы экзосом верифицировали методами анализа траектории движения наночастиц (NTA) и анализа белковых маркеров экзосом (CD9, флотиллин, Alix).

**Результаты.** Анализ образцов условно нормальной ткани (морфологически не измененные участки легкого) выявил практически полное отсутствие сурвивина, в то время как в образцах опухолей высокий уровень сурвивина показан в 73 % образцов НМРЛ

независимо от гистологического типа. В обоих типах ЭКВ сурвивин высоко представлен в кондиционированных средах всех исследованных линий, причем уровень сурвивина в везикулах значительно выше, чем в лизатах клеток-продуцентов. В ЭКВ плазмы крови сурвивин не обнаруживался даже при двукратном увеличении общего количества материала (50 мкг белка).

**Выводы.** Впервые показано, что клетки НМРЛ секретируют ЭКВ, характеризующиеся присутствием высокого уровня опухолеассоциированного белка сурвивина. Вместе с тем в ЭКВ периферической крови пациентов с НМРЛ сурвивин не обнаруживается, что может объясняться присутствием в плазме крови большого разнообразия ЭКВ, продуцируемых различными нормальными клетками. Результаты свидетельствуют о необходимости дальнейшего исследования сурвивина в ЭКВ с использованием более чувствительных методов для определения возможности использования данного белка в качестве маркера НМРЛ для жидкостной биопсии.

## Тезисы

### Нетрадиционное тестирование HER2/neu-положительных опухолей рака молочной железы методом количественной оценки полимеразной цепной реакции

А.Н. Абдихакимов<sup>1</sup>, М.Т. Тухтабоева<sup>1</sup>, Ш. Рустамова<sup>2</sup>,  
А. Абдурахимов<sup>2</sup>, Ш.У. Турдикулова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ташкентский областной онкологический диспансер,  
Республика Узбекистан;

<sup>2</sup> Учебно-экспериментальный центр высоких технологий,  
Ташкент, Республика Узбекистан

HER2 (HER2/neu), человеческий рецептор эпидермального фактора роста-2, играет центральную роль в патогенезе нескольких типов рака у человека. Рецептор HER2 – 185 kD, трансмембранный гликопротеид, кодируемый геном, расположенным в локусе 17q12. HER2 обнаружен во многих тканях, и его основная роль в онкогенезе заключается в том, чтобы обеспечить чрезмерный/неконтролируемый рост клеток. В нормальном количестве белок HER2 играет важную роль в росте и развитии эпителиальных клеток. Если ген поврежден, вырабатывается больше рецепторов HER2, что увеличивает скорость роста и размножения раковых клеток. Амплификация или увеличение экспрессии гена *HER2* наблюдается в 30 % случаев РМЖ. Опухолевые клетки при РМЖ могут иметь до 25–50 копий гена *HER2* и демонстрировать 40–100-кратное увеличение белка HER2, что приводит к появлению 2 млн рецепторов, экспрессируемых на поверхности опухолевых клеток. Против HER2/neu разработано несколько видов антител, в том числе и моноклональные (герцептин), используемые при терапии РМЖ.

Из-за клинической значимости усиления экспрессии HER2/neu существует много методов для ее количественного определения. Существующие традиционные и нетрадиционные методы обнаружения *HER2/neu* включают иммуногистохимическое окрашивание, флуоресцентную гибридизацию *in situ* (FISH), а в последнее время и другие молекулярные методы. Они дороги и зачастую зависимы от коммерческих фирм-производителей моноклональных антител. В связи с этим были разработаны и другие «нетрадиционные» методы ПЦР для количественного определения гена *HER2/neu*. Наш анализ проводился с использованием разработанных последовательностей гибридных зондов для обнаружения мишени (HER2/neu) и контрольного гена ( $\beta$ -глобина) одновременно. Метод оценивали с использованием 65 образцов опухоли молочной железы.

Результаты ИГХ-анализа и ПЦР оказались согласованы для 106 из 121 проанализированного образца (соответствие 88 %); 5 образцов, не показавших соответствия, были подвергнуты микродиссекции, и отдельные участки всех 15 были положительными при ПЦР, таким образом, разрешив несоответствие. ПЦР в реальном времени и микродиссекция ввиду простоты использования и широкого динамического диапазона полезны клинически для определения количества HER2/neu.

### Клиническая значимость системы RANK/RANKL/OPG при первичных новообразованиях костей

А.А. Алферов, Ю.Н. Соловьев, И.В. Булычева,  
М.Д. Алиев, Н.Е. Кушлинский

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** Система RANK/RANKL/OPG – важнейшее звено многих патологических процессов, сопровождающихся поражением костной ткани, в том числе и при саркомах костей.

**Задачи исследования.** Анализ содержания компонентов системы RANK/RANKL/OPG в сыворотке крови больных с новообразованиями костей и их взаимосвязь с основными клинико-морфологическими характеристиками костных опухолей.

**Материалы и методы.** Обследовали 163 больных с опухолями костей: 101 больной саркомой кости (остеосаркома – 37, хондросаркома – 41, хордома – 12, саркома Юинга – 7, плеоморфная недифференцированная саркома – 2, фибросаркома – 2), 32 больных с пограничными новообразованиями костей (гигантоклеточная опухоль кости, ГКО) и 30 пациентов с доброкачественными и опухолеподобными поражениями костей. Сывороточные уровни RANK определяли методом ИФА (Uscn Life Science Inc, Китай), sRANKL и OPG (Biomedica Medizinprodukte, Австрия).

**Результаты.** RANK выявлен в сыворотке крови у 35 % пациентов со злокачественными, 44 % с доброкачественными опухолями костей, 52 % – у больных с ГКО, 34 % – в контрольной группе. Достоверных различий сывороточных уровней RANK между обследованными группами не выявлено. Уровни sRANKL и OPG в сыворотке крови больных с ГКО достоверно повышены относительно контроля. Уровень sRANKL у пациентов с ГКО достоверно выше, чем у больных со злокачественными опухолями костей. Выявлена положительная корреляция между уровнями OPG

и RANK у больных ГКО ( $R = 0,68$ ) и в группе злокачественных опухолей ( $R = 0,64$ ). У пациентов с доброкачественными новообразованиями костей обнаружена отрицательная корреляция между уровнями sRANKL и OPG ( $R = -0,50$ ;  $p < 0,05$ ).

**Выводы.** При первичных новообразованиях костей происходят существенные нарушения баланса компонентов регулирующей остеокластогенез сигнальной системы RANK/RANKL/OPG, направление и степень выраженности которых зависят от характера новообразования. Выявленные изменения свидетельствуют о нарушении баланса активаторов и ингибиторов остеолитической активности при первичных опухолях костей. Наиболее значимые изменения обнаружены при ГКО – пограничном новообразовании кости, характеризующемся интенсивным остеолитическим процессом, а также при злокачественных опухолях хрящевого происхождения – хордоме и хондросаркоме. Однако при наиболее распространенном злокачественном новообразовании костей – остеосаркоме – изменения в сывороточных концентрациях компонентов системы RANK/RANKL/OPG незначительны.

## Уровень экспрессии гена *ERCC1* в опухолевой ткани как маркер чувствительности к платиносодержащим препаратам при раке яичников

И.И. Антонеева<sup>1,2</sup>, Д.Р. Долгова<sup>1</sup>, Т.П. Генинг<sup>1</sup>,  
Т.В. Абакумова<sup>1</sup>, С.О. Генинг<sup>2</sup>, Д.Ф. Мясникова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет»;  
<sup>2</sup>ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер»,  
Ульяновск

**Введение.** Проблема оценки эффективности ХТ в современной онкогинекологии крайне актуальна. Подбор адекватных молекулярных маркеров в качестве предиктивных факторов позволяет более четко прогнозировать предполагаемый ответ опухоли на действие платиносодержащих препаратов. *ERCC1* кодирует фермент репарации ДНК после повреждения препаратами платины.

**Задачи исследования.** Оценка прогностической роли экспрессии *ERCC1* при раке яичников в ответе опухоли на платиносодержащую ХТ.

**Материалы и методы.** Анализ экспрессии *ERCC1* по уровню матричной РНК проводился с помощью реакции обратной транскрипции с последующей количественной ПЦР на образцах интраоперационно полученной ткани от 17 больных раком яичников до начала ХТ лечения. Выделение РНК проводили с использованием набора «Реал-Бест Экстракция 100» на магнитных частицах. Уровень экспрессии оценивался путем вычисления разности между пороговыми

циклами амплификации гена-мишени и рефери-гена (*GAPDH*) по протоколу Qiagen относительно условно прилежащей нормальной ткани. У всех пациенток выполнена оптимальная циторедукция. Оценка эффективности адъювантной ХТ по схеме AP проводилась по показателям безрецидивной выживаемости после последнего курса.

**Результаты.** Нами установлен повышенный уровень транскрипта *ERCC1* в опухолевой ткани относительно нормальной в 47 % наблюдаемых случаев (8 пациенток). Из них у 5 женщин выявлен ранний рецидив в течение 6 мес после окончания ХТ (62,5 %). В группе с рецидивом были значимо повышены показатели CA-125.

В группе с низким уровнем транскрипта *ERCC1* у 2 из 9 пациенток выявлен ранний (до 6 мес после последнего курса ХТ) рецидив. У остальных 7 пациенток не выявлено в течение года рецидива после платиносодержащей терапии.

**Выводы.** Определение показателя уровня транскрипта *ERCC1* в опухолевой ткани после оптимальной циторедукции может быть использовано в качестве дополнительного предиктивного маркера при назначении платиносодержащей ХТ при раке яичников.

## Протеомное картирование экзосом крови для поиска биомаркеров рака молочной железы

Ю.С. Бакакина<sup>1</sup>, С.Н. Тамкович<sup>2</sup>,  
О.С. Тутанов<sup>2</sup>, В.Э. Сяхович<sup>3</sup>, С.А. Беляев<sup>3</sup>,  
Л.В. Дубовская<sup>1</sup>, П.П. Лактионов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь;  
<sup>2</sup>ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск;  
<sup>3</sup>УЗ «Национальная антидопинговая лаборатория», агрогородок Лесной, Ленинградская область

**Введение.** На современном этапе развития диагностической медицины перспективным представляется использование сравнительного протеомного анализа биологических жидкостей для выявления потенциальных белков-маркеров заболеваний. Исследование белкового состава экзосом крови больных весьма актуально, поскольку они содержат в своем составе белки продуцирующих их клеток и могут служить источником диагностически значимых биомаркеров злокачественных новообразований.

**Задачи исследования.** Протеомное картирование экзосом крови здоровых женщин и больных РМЖ.

**Материалы и методы.** Экзосомы плазмы крови и экзосомы, связанные с поверхностью клеток крови, здоровых женщин и пациенток с первичным РМЖ были получены методом фильтрации и ультрацентрифугирования. С помощью трансмиссионной электронной

микроскопии охарактеризован размер везикул, а с помощью моноклональных коммерческих антител исследована экспрессия на поверхности частиц тетраспаниновых рецепторов (CD-9, CD-24 и CD-63). Протеомные карты экзосом крови получены с помощью метода 2D-электрофореза и статистически проанализированы.

**Результаты.** Сравнительный анализ протеомных карт экзосом крови в группе пациенток с РМЖ и группе здоровых женщин позволил выявить различия в белковом спектре в норме и при патологии. Эти изменения были менее выражены на протеомных картах экзосом плазмы по сравнению с протеомными картами экзосом, связанных с поверхностью клеток крови. Данные белки, по которым наблюдались отличия между исследуемыми группами, были масс-спектрометрически идентифицированы.

**Выводы.** Полученные данные указывают на эффективность использования протеомного картирования экзосом, связанных с поверхностью клеток крови, для поиска потенциальных биомаркеров РМЖ.

*Исследование поддержано грантами БРФФИ № М15СО-025 и Интеграционного проекта СО РАН.*

## Оценка местного применения бисфосфонатов у пациентов с остеолитическими метастазами по состоянию острофазовых белков плазмы крови

А.А. Барашев, О.И. Кит, Е.М. Франциянц,  
Л.С. Козлова, Л.Н. Ващенко

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

**Задачи исследования.** Изучение острофазовых компонентов калликреин-кининовой системы, кининразрушающего фермента карбоксипептидазы N (КПН), активности трипсиноподобных протеиназ (АТП) и универсальных ингибиторов плазмы крови у онкологических больных при местном лечении бисфосфонатом солитарных остеолитических метастазов с различной локализацией первичного очага.

**Материалы и методы.** Исследована плазма крови 70 больных в возрасте 38–72 лет с солитарными остеолитическими метастазами (pT3–4NxM1) и 32 доноров. При этом 30 больных контрольной группы (КГ) получали стандартное комплексное лечение, 40 больным основной группы (ОГ) комплексная терапия дополнена локальным воздействием золедроновой кислоты. Всем пациентам КГ и ОГ выполняли интрамедуллярный остеосинтез либо чрескожные вертебро- и остеопластику по общепринятым методикам. Методы: спектрофотометрия и ИФА. Статистика: программа Statistica 10.0.

**Результаты.** До лечения в плазме крови всех больных установлена повышенная АТП и сниженная активность  $\alpha_2$ -макроглобулина ( $\alpha_2$ М) и  $\alpha_1$ -протеиназного ингибитора ( $\alpha_1$ ПИ) ( $p < 0,01$ ). У всех больных наблюдалось истощение прекалликреина и КПН при высокой активности калликреина. После операции у больных КГ в 1–7-е сутки сохранялась высокая АТП, сниженное количество прекалликреина, КПН и обоих ингибиторов. У больных ОГ с 1-х суток увеличивалась активность КПН и ингибиторов ( $p < 0,01$ ), это совпало по времени с уменьшением (55 % случаев) или исчезновением (42,5 %) болевого синдрома. Картина сохранялась на 7-е сутки, к этому сроку боль была купирована у 39 из 40 пациентов ОГ. В ОГ после лечения бисфосфонатом к моменту выписки коэффициент Watkins был 0,80–0,85. В КГ подобные изменения развивались с 7-х суток у 36,7 % (11 больных из 30). Основываясь на результатах, предполагаем, что это связано с локальным воздействием бисфосфонатов.

**Выводы.** 1. При развитии остеолитических метастазов длительная активация калликреин-кининовой системы приводит к истощению прекалликреина, КПН,  $\alpha_2$ М и  $\alpha_1$ ПИ при высокой активности калликреина в плазме крови у всех больных. 2. Локальное интраоперационное применение золедроновой кислоты снижает АТП в циркуляции, восстанавливает активность КПН, стимулирует эндогенные ингибиторы  $\alpha_1$ ПИ и  $\alpha_2$ М, начиная с первых суток после оперативного лечения.

## Компоненты тканевой фибринолитической системы – маркеры процессов в опухолях матки и молочной железы

М.И. Верескунова, О.И. Кит, Е.М. Франциянц, Л.С. Козлова  
*ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России*

**Введение.** В настоящее время компоненты тканевой фибринолитической системы рассматриваются как важнейшие агенты, обеспечивающие прогрессию опухоли.

**Задачи исследования.** Изучение компонентов фибринолитической системы в ткани опухолей матки и молочной железы.

**Материалы и методы.** Были исследованы образцы тканей РМЖ ( $n = 24$ ), узловой формы фиброзно-кистозной мастопатии ( $n = 15$ ) и миомы матки (ММ) ( $n = 14$ ), а также при синхронно развивающемся РМЖ и ММ ( $n = 12$ ). В качестве контрольных образцов использовали интактную ткань молочной железы (ИМЖ) ( $n = 16$ ) и миометрия ( $n = 14$ ). Методом ИФА определяли активность плазмина, общее содержание и активность активатора плазминогена урокиназного типа (uPA-АГ и uPA-акт), активатора плазминогена тканевого типа

(tРА-АГ и tРА-акт) и содержание плазминогена спектрофотометрическим методом (ACTICHROME PLG, США).

**Результаты.** В ткани РМЖ при солитарном росте uРА-АГ был в 6,5 раза выше, чем в ИМЖ, uРА-акт в опухоли повышена в 4,5 раза. Концентрация tРА-АГ в РМЖ 75 % больных превышала значения в ИМЖ в 2,1 раза, а tРА-акт у 87,5 % больных — в 1,5 раза. В ткани РМЖ при фиброзно-кистозной мастопатии tРА-АГ и tРА-акт не имели достоверных отличий от ткани ИМЖ. uРА-АГ и uРА-акт в этих образцах были повышены в 2,2 раза каждый. При сочетании РМЖ и ММ в ткани РМЖ uРА-АГ выше нормы в 10,6 раза, а uРА-акт — в 5,5 раза. tРА-АГ в 75 % образцов был выше ИМЖ в 3,8 раза, а tРА-акт — в 2,7 раза. В ткани ММ при сочетанной патологии uРА-АГ и uРА-акт не отличались от значений в интактной ткани миоэпителия, а tРА-АГ и tРА-акт были выше нормы в 1,8 и 1,5 раза соответственно. При этом в ММ при самостоятельном росте уровень и активность uРА и tРА не имели достоверных отличий от интактной ткани миоэпителия. Полученные результаты указывают на то, что в ткани РМЖ при обоих вариантах, а также в ММ при сочетанной патологии протекает процесс активного образования плазмينا из плазминогена.

**Выводы.** Компоненты тканевой фибринолитической системы являются надежными маркерами процессов, происходящих в опухолях женских репродуктивных органов при самостоятельном росте и полинеоплазиях.

## Оценка факторов риска рака молочной железы и определение встречаемости онкомаркера Ki-67 у больных с узловыми мастопатиями

М.С. Гильдиева<sup>1</sup>, Л.Т. Алимходжаева<sup>1</sup>, А.А. Абдувалиев<sup>2</sup>,  
А.В. Ходжаев<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Республиканский онкологический научный центр, Ташкент, Республика Узбекистан;

<sup>2</sup> Ташкентская медицинская академия, Республика Узбекистан

**Задачи исследования.** Изучение уровня экспрессии молекулярно-биологического маркера Ki-67 у пациенток с узловыми и диффузными формами мастопатии для улучшения ранней диагностики РМЖ.

**Материалы и методы.** РОНЦ МЗ РУз проводилось исследование 81 пациентки с узловыми мастопатиями и отягощенным анамнезом. Определение Ki-67 проводилось авидин-биотиновым методом. Результаты ИГХ-реакций оценивались полуколичественным способом.

**Результаты.** На основании совокупности рентгенологических, сонографических и ИГХ-исследований пациентки были разделены на группы. Первую группу

составили 26 женщин с наличием узла в молочной железе и риском развития РМЖ, 2-ю — 25 женщин без выявленного узла в молочной железе и наличием фиброзной мастопатии. Группа контроля состояла из 30 женщин с РМЖ. Средний возраст составил 39 лет. Всего нами выявлено 5 (6 %) фиброаденом, 20 (31 %) случаев узловых мастопатий, из которых 2 (8 %) с дисплазией. При клиническом обследовании у 25 пациенток 2-й группы наличие узлообразования первоначально не выявлено, но при проведении маммографии у 14 (56 %) были выявлены признаки узла в молочной железе. На этапе обследования пациенткам 1-й группы было проведено исследование экспрессии Ki-67. При изучении результатов было выявлено, что у 65 % больных с узловыми мастопатиями отмечается низкая экспрессия Ki-67 <12 % положительных клеток. Слабая экспрессия Ki-67 отмечается у 35 % больных с узловыми мастопатиями (положительной окраской клеток <33 %). Для сравнения были исследованы срезы опухолей молочной железы. У 60 % больных, особенно молодого возраста, отмечается умеренная и высокая (от 33 % и выше клеток с положительной окраской) экспрессия Ki-67.

**Выводы.** Активное внедрение в практику метода определения онкомаркера Ki-67 в сочетании с методом маммографии и УЗИ повышает качество диагностики и лечения РМЖ.

## Биохимические нарушения при сепсисе у детей с онкологическими заболеваниями

Е.Г. Головня, А.В. Лебедева, В.Н. Байкова, А.В. Сотников  
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России

**Введение.** Сепсис является одним из наиболее опасных осложнений комплексного лечения онкологических больных. Детский возраст, иммуносупрессия, вызванная полихимиотерапией, при этом являются отягощающими факторами.

**Задачи исследования.** Выявить значимые биохимические нарушения у онкологических больных при сепсисе и установить характер связи между ними и маркером сепсиса и фагоцитоза — пресепсином.

**Материалы и методы.** В ретроспективное исследование были включены данные о биохимических показателях 50 пациентов в возрасте от 3 до 18 лет, получавших химиотерапевтическое лечение по основному заболеванию, у которых был диагностирован сепсис на основании клинических симптомов. Из общего числа пациентов группа выживших составила 40 человек, группа умерших — 10. Концентрацию биохимических маркеров исследовали спектрофотометрическими методами, а пресепсина — иммунохемилюминесцентным методом.

**Результаты.** Выявлены различия медиан изученных показателей в группах выживших и умерших пациентов: пресепсин — 576 против 2370 пг/мл соответственно; общий билирубин — 15,0 мкмоль/л против 137,2 мкмоль/л; прямой билирубин — 14,9 мкмоль/л против 196,7 мкмоль/л; аланинаминотрансфераза — 16,2 Ед/л против 61,0 Ед/л; аспаргатаминотрансфераза — 24,5 Ед/л против 75 Ед/л; лактатдегидрогеназа — 377,5 Ед/л против 840,0 Ед/л;  $\gamma$ -глутамилтрансфераза — 76,0 Ед/л против 329,5 Ед/л ( $p = 0,000$ ). В группе умерших установлены сильные корреляции уровня пресепсина с общим и прямым билирубином, мочевиной (0,810; 0,880, 0,589 соответственно;  $p < 0,01$ ).

**Выводы.** Выявленные изменения биохимических показателей у детей с онкологическими заболеваниями отражают степень органной недостаточности при развитии сепсиса, причем в группе умерших она закономерно выше. Сильная корреляционная зависимость между уровнями пресепсина, билирубина и мочевины в группе умерших пациентов указывает на то, что поражение печени и почек является наиболее выраженным проявлением полиорганной недостаточности при сепсисе.

## Экспрессия белка P16INK4a в гастроинтестинальных стромальных опухолях

А.А. Должиков<sup>1</sup>, К.О. Хижняков<sup>1,2</sup>, М.И. Чурнов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород;

<sup>2</sup> ОГБУЗ «Онкологический диспансер», Белгород

**Задачи исследования.** Определение особенностей экспрессии регулятора клеточного цикла — белка p16INK4a как возможного маркера биологического потенциала гастроинтестинальных стромальных опухолей (ГИСО).

**Материалы и методы.** Использован биопсийный и операционный материал 62 архивных случаев ГИСО органов брюшной полости и забрюшинного пространства. Проведено стандартное патогистологическое исследование. ИГХ-анализ диагностических маркеров (гладкомышечный актин, CD34, CD117, S100, Dlg1, Ki67) и белка p16 проведен с использованием технологии Tissue microarrays. Исследовали 269 участков опухолей, применяя компьютерный анализ изображений со статистической обработкой данных и используя параметрические и непараметрические (Фишера, Пирсона) критерии.

**Результаты.** Из общего числа случаев злокачественных ГИСО выявлены в 27 (43,5 %) наблюдениях, чаще у женщин (51,9 %). Большинство в исследованном материале (37,0 %) составили опухоли желудочной локализации. Преобладающим (59,3 %) среди злокачественных ГИСО был веретенноклеточный вариант,

40,7 % составили опухоли смешанного строения. Соответственно при веретенноклеточном цитологическом варианте строения достоверно чаще ( $p < 0,05$ ) диагностированы опухоли с высоким риском злокачественности и злокачественные (в 57,9 %). В опухолях веретенноклеточного строения и веретенноклеточных участках при смешанной структуре достоверно чаще ( $p = 0,002$ ) экспрессия p16 была низкой или отсутствовала, тогда как для эпителиоидных структур, напротив, характерна гиперэкспрессия данного белка.

**Выводы.** Злокачественные ГИСО чаще имеют веретенноклеточное строение и характеризуются снижением уровня экспрессии супрессорного регулятора клеточного цикла — белка p16. Опухоли эпителиоидноклеточного строения характеризуются гиперэкспрессией данного белка. ИГХ-определение белка p16 может быть дополнительным методом для верификации типа ГИСО и определения их биологического потенциала, а дальнейшее исследование других регуляторов клеточного цикла может быть перспективным для выработки диагностических и прогностических критериев при ГИСО.

## Новый дополнительный тест в дифференциальной диагностике опухолей головного мозга по активности трипсиновых протеиназ плазмы крови

Л.С. Козлова, О.И. Кит, Е.М. Франциянц, Э.Е. Росторгуев

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России

**Введение.** Факт активации протеиназ крови трипсинового типа при злокачественных новообразованиях давно доказан. Активность ферментов, синтезируемых и секретируемых злокачественной опухолью, как правило, не контролируется эндогенными ингибиторами. Доброкачественные опухоли обычно не вступают в метаболический конфликт с организмом носителя, по крайней мере до возможного озлокачествления.

**Задачи исследования.** Изучение изменений активности трипсиноподобных протеиназ (АТР) в плазме крови больных для определения возможности использования этого показателя в качестве дополнительного теста в дифференциальной диагностике опухолей головного мозга.

**Материалы и методы.** Исследована плазма крови 164 больных, поступивших на оперативное лечение в РНИОИ: 37 — с доброкачественными опухолями головного мозга, 74 — с первичными злокачественными (глиобластомы) и 53 — с метастазами РМЖ в головной мозг. АТР определяли до лечения на двулучевом спектрофотометре «U-2900 UV Solutions» (США). Результаты сравнивали с данными 39 здоровых доноров.

Статистика: сертифицированная программа Statistica 10.

**Результаты.** У 37 (22,6 %) из 164 больных АТР не отличалась от таковой у здоровых лиц. После удаления опухоли головного мозга и гистологического исследования операционного материала полученные заключения во всех 37 случаях констатировали доброкачественное новообразование головного мозга. У 74 (45,1 %) из 164 больных АТР превышала таковую у здоровых лиц в 3,8–5,3 раза (в среднем  $4,4 \pm 0,3$ ). После удаления опухоли головного мозга и гистологического исследования операционного материала полученные заключения во всех 74 случаях констатировали первичные глиобластомы. У 53 (32,3 %) больных АТР превышала таковую у здоровых лиц в 5,9–9,4 раза (в среднем  $7,3 \pm 0,5$ ). После удаления опухоли головного мозга и гистологического исследования операционного материала полученные заключения во всех 53 случаях констатировали метастазы.

**Выводы.** Величина АТР, соответствующая нормальному уровню, указывает на доброкачественную природу опухоли. Повышенная от 3,8 до 5,3 раза величина АТР свидетельствует о том, что новообразование является первичным злокачественным. Повышение АТР от 5,9 до 9,4 раза подтверждает наличие метастазов в ткани мозга.

## Разработка шкалы эффективности циклофосфамида у пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями с фенотипом В хронического лимфолейкоза

М.А. Колесникова<sup>1</sup>, А.В. Сенькова<sup>2</sup>, П.Н. Мирошников<sup>3</sup>,  
О.В. Березина<sup>1</sup>, В.С. Овчинников<sup>1</sup>, И.Н. Нечунаева<sup>4</sup>,  
Г.В. Шамаева<sup>4</sup>, Т.В. Мельникова<sup>4</sup>, А.В. Мишенин<sup>4</sup>,  
Т.И. Поспелова<sup>1</sup>, М.А. Зенкова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России;

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск;

<sup>3</sup>АО «Сибирский центр фармакологии и биотехнологии», Новосибирск;

<sup>4</sup>Городской гематологический центр г. Новосибирска

**Введение.** Циклофосфамид входит во многие схемы полихимиотерапии лимфопролиферативных заболеваний. Противоопухолевой активностью обладают несколько активных метаболитов, которые образуются после введения лекарственного препарата. Активация циклофосфамида в организме происходит довольно быстро: через 15 мин после введения отмечается максимальная концентрация препарата в сыворотке крови, которая сохраняется в течение 1 ч. Затем концентрация постепенно снижается и через 2 ч опреде-

ляется лишь 50 % от максимальной. Исследование концентрации неизменной (неактивной) формы препарата в сыворотке крови пациента может быть важным маркером эффективности противоопухолевого действия циклофосфамида *in vivo*.

**Задачи исследования.** Оценить эффективность терапии больных ХЛЛ и В-мелкоклеточной лимфомой/ХЛЛ, получивших циклофосфамид в составе различных курсов полихимиотерапии, в зависимости от средней концентрации препарата в сыворотке крови и разработать шкалу оценки эффективности данного препарата.

**Материалы и методы.** В исследование было включено 27 пациентов с ХЛЛ и В-мелкоклеточной лимфомой/ХЛЛ, средний возраст которых составил  $59,5 \pm 9,6$  года. Все пациенты получали циклофосфамид: в составе курсов RFC – 13 пациентов, курсов RC (H) OP – 14 пациентов. Уровень концентрации циклофосфамида определяли в сыворотке крови через 2 ч после введения цитостатика с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. Полученные данные сопоставлены с ответом пациентов на проводимую ХТ. Для оценки связи показателей использовался тест ранговой корреляции Спирмена.

**Результаты.** У пациентов выявлена сильная прямая корреляционная связь между ответом на терапию и уровнем концентрации циклофосфамида в сыворотке крови ( $r = 0,74, p < 0,05$ ). На основании полученных данных для оценки эффективности циклофосфамида *in vivo* была разработана следующая шкала: 1 балл – от 0 до 7 мкг/мл (высокая эффективность); 2 балла – от 7 до 21 мкг/мл (средняя эффективность); 3 балла – более 21 мкг/мл (низкая эффективность).

**Выводы.** Определение средней концентрации циклофосфамида может быть использовано в качестве скринингового метода для прогнозирования ответа на лечение и выбора адекватной терапии у больных лимфопролиферативными заболеваниями с фенотипом В-ХЛЛ. Эффективность использования циклофосфамида можно определить с помощью разработанной оценочной шкалы.

## Двунитевое сканирование мутаций методом плавления ДНК

В.Н. Кондратова, А.В. Лихтенштейн  
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

Разработан способ одновременного сканирования мутаций в обеих нитях ампликона методом симметричной ПЦР с последующим плавлением ДНК (DMA, DNA Melting Analysis). Использование в симметричной ПЦР комбинированных праймеров, состоящих из универсальной и специфической последовательностей, ведет к образованию одностранных ампликонов-«шпилек»

(sense и antisense). «Шпилечная» конформация позволяет сохранить часть ампликонов в односторонней форме, что способствует их гибридизации с присутствующими в среде двумя зондами TaqMan, но не друг с другом. Специально подобранные условия амплификации, обеспечивающие избирательное подавление синтеза аллелей дикого типа, позволили повысить чувствительность мутационного сканирования (предел обнаружения мутантных аллелей – 0,2 %). Этот подход устраняет ограничения стандартного DMA с зондами TaqMan, обусловленные необходимостью асимметричного варианта ПЦР. Предлагаемый вариант DMA позволяет как количественно оценивать анализируемые гены, так и выявлять в них генные мутации. Метод реализуется в «закрытом формате», минимизирующем риск перекрестного загрязнения клинических образцов. Одновременное двунитевое тестирование ампликона, повышающее надежность и чувствительность анализа, может найти применение в экспериментальном и клиническом генотипировании.

## Система инсулиноподобных факторов роста в оценке прогноза злокачественных опухолей костей

Н.Е. Кушлинский, И.В. Булычева, Ю.С. Тимофеев, А.В. Бондарев, Ю.М. Шупак, М.Д. Алиев, Ю.Н. Соловьев

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** Система инсулиноподобного фактора роста (ИФР) оказывает комплексное влияние на развитие новообразований костей. В настоящее время остаются до конца не разработанными неинвазивные методы оценки прогноза опухолей костей с применением сывороточных уровней компонентов системы ИФР.

**Задачи исследования.** Изучение перспективы использования компонентов системы ИФР: ИФР I и II типа (ИФР-I и ИФР-II), а также специфических регуляторных белков, связывающих ИФР в сыворотке крови (ИФРСБ-1 и ИФРСБ-3), в оценке прогноза злокачественных новообразований костей.

**Материалы и методы.** В исследование включены 74 пациента со злокачественными новообразованиями (остеосаркома, хондросаркома, саркома Юинга, недифференцированная плеоморфная саркома, хордома). Опухоль у обследованных пациентов выявлена впервые. После обследования пациенты получали комбинированное лечение, включающее адьювантную и/или неoadьювантную ХТ, а также хирургическое лечение согласно современным стандартам. В контрольную группу вошли 50 практически здоровых людей соответствующего возраста и пола. Определение маркеров системы ИФР проводили иммуноферментным методом с использованием реактивов фирмы «Diagnostic System Laboratories, Inc».

**Результаты.** Анализ кривых выживаемости показал, что сывороточные уровни ИФР-I >243 нг/мл были связаны с неблагоприятным прогнозом безрецидивной выживаемости больных хондросаркомой и общей выживаемости при саркоме Юинга. Уровни ИФР-II >1968 нг/мл были ассоциированы с неблагоприятным прогнозом при остеосаркоме. Концентрации ИФРСБ-1 в сыворотке крови >31 нг/мл были связаны с худшей общей и безрецидивной выживаемостью больных саркомой Юинга, в то время как уровни ИФРСБ-3 >5845 нг/мл служили прогностически неблагоприятным фактором безрецидивной и общей выживаемости больных остеосаркомой и саркомой Юинга.

**Выводы.** Таким образом, факторами прогноза при остеосаркоме могут служить базальные сывороточные уровни ИФР-I, ИФР-II, ИФРСБ-3, при хондросаркоме – ИФР-I, при саркоме Юинга – ИФРСБ-1 и ИФРСБ-3.

## Разработка моноклональных антител для окрашивания PRAME-экспрессирующих лейкозных клеток

Н.А. Лыжко, В.А. Мисюрин,  
Ю.П. Финашутина, А.В. Мисюрин

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** PRAME/MAPE/OIP4 является нетипичным раково-тестикулярным антигеном, экспрессия которого связана с лейкемией и большой долей солидных опухолей. Ограниченный характер экспрессии гена *PRAME* в нормальных тканях и сильная экспрессия в опухолях представляют его как полезный маркер минимальной остаточной болезни после ХТ и привлекательную мишень для иммунотерапии, в частности при острой миелоидной лейкемии и хронической миелоидной лейкемии. Ранее нами с помощью моноклональных антител (МКА) к белку PRAME была определена локализация белка PRAME, как внутриклеточная, так и на поверхности опухолевой клетки. Исследования проводились в основном на линиях клеток. В данной работе для тестирования МКА к белку PRAME использовали материал от больных.

**Задачи исследования.** Тестирование МКА 6H8F12 на степень их связывания (аффинности) с антигеном PRAME на поверхности опухолевой клетки.

**Материалы и методы.** Материалом для исследования служили пробы периферической крови и биопсии из селезенки и лимфатических узлов больных. Иммунофенотипирование проводили методом непрямой иммунофлуоресценции на суспензиях живых клеток. Первичными МКА служили антитела к дифференцировочным антигенам популяций клеток, вторичными – FITC-меченные F(ab)2 фрагменты

антител коз к мышинным иммуноглобулинам. Учет постановки реакции проводили с помощью фазово-контрастной и люминесцентной микроскопии.

**Результаты.** Во всех случаях МКА 6H8F12 в разведении (1:100) давали положительную реакцию с гранулоцитами, которые присутствовали в суспензии клеток в небольшом количестве. Положительное окрашивание было обнаружено в 13 % случаев В-ХЛЛ, в 100 % случаев лимфомы мантийных клеток, в 50 % случаев селезеночной лимфомы маргинальной зоны, и в 25 % Т-клеточных лимфопролиферативных заболеваний.

**Выводы.** Несмотря на небольшую выборку, полученные данные подтвердили предположение о возможности использования МКА 6H8F12 к белку PRAME для определения PRAME-положительных клеток в материале от больных. Наличие эпитопов белка PRAME на поверхности клеток у больных дает нам основания для дальнейшего исследования МКА 6H8F12 в качестве субстрата для разработки препарата в терапии опухолей.

### Прогностическое значение VEGF-A/VEGF-R и EGF при метастазировании колоректального рака в печень

Е.А. Никипелова, О.И. Кит, Е.М. Франциянц, А.А. Маслов,  
Ю.А. Погорелова

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

**Введение.** Метастазирование колоректального рака (КРР) в печень резко снижает эффективность проведенного лечения и сокращает продолжительность жизни больных. Однако вовремя выявленные метастазы позволяют повысить среднюю выживаемость и улучшить качество жизни.

**Задачи исследования.** Выявление значимых факторов для прогноза метастазов КРР в печень.

**Материалы и методы.** У 113 больных КРР (43 случая — рак прямой кишки T2–3N0M1 и 70 — рак ободочной кишки T2–3N0M1) стандартными методами ИФА в ткани опухоли и ткани линии резекции определяли уровень VEGF-A, VEGF-R, EGF.

**Результаты.** У всех больных КРР уровень VEGF-A и VEGF-R в опухоли по сравнению с показателями в линии резекции был повышен, вне зависимости от локализации опухоли в сигмовидной или прямой кишке. У 46,5 % больных раком прямой кишки и у 29 % больных раком сигмовидной кишки уровень VEGF-A оказался более чем в 2,5 раза выше, чем у остальных пациентов. При этом соотношение VEGF-A/VEGF-R также было выше — в 2,9 раза. Кроме того, у данной группы пациентов в ткани опухоли установлен рост

уровня EGF в 3,9 раза при раке прямой кишки и в 4,2 раза при раке сигмовидной кишки по сравнению с показателями в ткани линии резекции. В ходе наблюдения у данной когорты больных в ближайшие 3 мес жизни установлено наличие метастатического поражения печени.

**Выводы.** В опухоли прямой и сигмовидной кишки активируется неоангиогенез, при этом повышение VEGF-A в совокупности с ростом EGF способствует прогрессированию опухолевой болезни и метастазированию. Показатели соотношения VEGF-A/VEGF-R в ткани опухоли по сравнению с линией резекции могут являться надежным фактором прогноза метастазирования в печень.

### Уровень мРНК гена CD38 в опухолевых очагах больных раком молочной железы

А.А. Пархоменко, А.Д. Перенков, Д.В. Новиков, В.В. Новиков  
ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский  
Нижегородский государственный университет  
им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород

**Введение.** Молекула CD38 представляет собой одноцепочечный трансмембранный гликопротеин семейства АДФ-рибозилциклазы, является молекулой адгезии и активационным маркером лимфоцитов. Изменение экспрессии гена CD38 уже используют для прогноза течения рака эндометрия, лейкемии, миеломы и ХЛЛ. Известно, что мРНК CD38 встречается в опухолях простаты, яичка, легких, желудка, печени, толстой кишки и др. По данным ВОЗ, РМЖ — самое распространенное онкологическое заболевание у женщин. При этом РМЖ до сих пор остается не до конца изученным заболеванием женской половой сферы, что делает исследования в этой области крайне актуальными.

**Задачи исследования.** Оценка уровня полноразмерной формы мРНК гена CD38 в опухолевых очагах больных РМЖ.

**Материалы и методы.** В работе использовали 40 образцов опухоли больных РМЖ и клеточную линию аденокарциномы молочной железы MCF-7. Уровень мРНК CD38 оценивали с помощью TaqMan ПЦР в реальном времени.

**Результаты.** Показано, что в 33 (82,5 %) образцах опухолевых очагов детектировалась полноразмерная форма мРНК CD38, а в 7 (17,5 %) — не детектировалась. В клеточной линии MCF-7 также была обнаружена мРНК гена CD38. Уровень полноразмерной формы мРНК CD38 в опухолевых очагах больных РМЖ был в 256 раз выше, чем уровень мРНК CD38 в клеточной линии MCF-7 ( $p \leq 0,05$ ).

Различий между уровнем мРНК CD38 как среди больных с метастазами и без них, так и среди больных

других групп не установлено. Однако в группе пациентов в возрасте от 60 до 74 лет данный критерий имел тенденцию к повышению относительно групп более молодого возраста.

**Выводы.** В нормальной железистой ткани молочной железы мРНК гена CD38 не обнаруживается. Наличие мРНК CD38 в опухолевых очагах может говорить о активации гена. Более высокий уровень мРНК CD38 в опухолевых очагах больных РМЖ относительно клеточной линии MCF-7 может быть объяснен присутствием в опухоли инфильтрованных лимфоцитов с активированным геном CD38.

## Применение наночастиц оксида тантала для лучевой терапии злокачественных новообразований

О.С. Плотникова<sup>1</sup>, А.В. Лугарева<sup>2</sup>, К.С. Лукьяненко<sup>3</sup>,  
О.В. Таракова<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Тихоокеанский государственный медицинский университет, Институт хирургии, Владивосток;

<sup>2</sup> Тихоокеанский государственный медицинский университет, ЦНИЛ, Владивосток;

<sup>3</sup> Дальневосточный федеральный университет, Школа естественных наук, Владивосток

**Введение.** Одним из признанных методов лечения злокачественных новообразований является лучевая терапия (ЛТ). Проблема поиска путей решения проблемы радиосенсибилизации и возникновения лучевой болезни у больных является актуальной и важной. Изучается возможность радиомодификации опухолей за счет введения соединений тяжелых металлов.

**Задачи исследования.** Экспериментальное подтверждение *in vivo* торможения роста перевиваемой злокачественной опухоли (аденокарцинома).

**Материалы и методы.** В эксперименте использовали 60 мышей-самок линии СВА с массой тела 20 г. Животным внутримышечно в правое бедро была перевита культура клеток аденокарциномы Эрлиха, в течение 15 дней ожидался рост опухоли. Животные были распределены на 4 группы, по 15 животных в каждой.

Группа № 1 – контрольная группа, № 2 – с дозой ионизирующего  $\gamma$ -излучения 20 Гр, № 3 – с введением в опухоль 0,5 мл 2,5 % взвеси наночастиц Ta<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, № 4 – с введением в опухоль 0,5 мл 2,5 % раствора наночастиц Ta<sub>2</sub>O<sub>5</sub> + доза ионизирующего  $\gamma$ -излучения 20 Гр на область опухоли. Дальнейшее наблюдение за мышами длилось 75 дней.

**Результаты.** Наиболее высокий уровень выживаемости мышей с перевитой опухолью наблюдается в группе № 4 – с введением 0,5 мл 2,5 % взвеси наночастиц Ta<sub>2</sub>O<sub>5</sub> + доза ионизирующего  $\gamma$ -излучения 20 Гр.

**Выводы.** Взвесь наночастиц оксида тантала в сочетании с ЛТ улучшает показатели выживаемости

животных с перевитой опухолью, на основании чего можно сделать вывод, что наночастицы оксида тантала являются перспективным соединением для применения при ЛТ злокачественных новообразований.

## Молекулярно-биологические характеристики сарком костей для прогнозирования эффективной терапии

Д.Ш. Полатова<sup>1</sup>, М.С. Гильдиева<sup>1</sup>, А.А. Абдувалиев<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Республиканский онкологический научный центр, Ташкент, Республика Узбекистан;

<sup>2</sup> Ташкентская медицинская академия, Республика Узбекистан

**Введение.** При оценке прогноза и выбора эффективных схем химиолучевой терапии и хирургического вмешательства молекулярно-генетические маркеры не являются общепринятыми в клинической практике.

**Задачи исследования.** Изучение возможности использования генетического тестирования для мониторинга эффективности проводимой терапии больных остеосаркомой.

**Материалы и методы.** Результаты реакций с антителами к Ki-67, BCL-2, mTP53 (мутантный ген), локализованными в ядрах и митохондриальном матриксе, выражали в процентах с учетом количества окрашенных клеток на 100 исследованных в различных полях зрения.

**Результаты.** ИГХ-исследования позволили установить, что достижение полного морфологического регресса при проведении неoadъювантной ХТ было выявлено у 13 % больных, среди которых у 70,6 % отсутствовала экспрессия мутантного p53 и экспрессия гена Ki-67, а у 80,0 % была выявлена экспрессия гена BCL 2. У 15,7 % больных после использования схемы ДВАРХ также наблюдался полный морфологический регресс, у 87,5 % этих больных мутантный белок p53 отсутствовал, у 90,0 % этих больных экспрессия гена BCL 2 была высокой, а у 80,0 % этих больных экспрессия гена Ki-67 не выявлена. У 14,5 % больных после неoadъювантной ХТ, у 19,4 % больных после применения схемы ДВАРХ и у 14,3 % больных после химиолучевой терапии эффект от лечения отсутствовал и наблюдалась прогрессия опухоли.

**Выводы.** Анализ полученных результатов позволил нам определить экспрессионный профиль (молекулярно-генетический фенотип) больных остеосаркомой. Высокий уровень экспрессии биомаркеров апоптоза и пролиферации (mTP53<sup>+</sup>, Ki 67<sup>+</sup>) и низкая экспрессия BCL-2 являются прогностическими факторами раннего метастазирования и появления ранних рецидивов (от 6 до 9 мес). Этот фенотип является прогностически неблагоприятным фактором прогрессирования опухолевого заболевания, низкой степени патоморфоза (1 и 2),

относительной небольшой продолжительности жизни больных (до 3 лет). Он связан с низкой степенью дифференцировки ( $G_3$ ), увеличением размера опухоли и с хондробластическим вариантом остеосаркомы.

## Влияние полиморфного локуса гена $FC\gamma IIIA$ на результаты терапии больных неходжкинскими злокачественными лимфомами в г. Новосибирске

Т.И. Поспелова<sup>1,2</sup>, М.Л. Филипенко<sup>3</sup>, В.С. Овчинников<sup>2</sup>,  
О.В. Березина<sup>1,2</sup>, Е.Н. Воропаева<sup>4</sup>, И.Н. Нечунаева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России;

<sup>2</sup>ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 2»,  
Новосибирск;

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт химической биологии  
и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск;

<sup>4</sup>НИИ терапии и профилактической медицины, Новосибирск

**Введение.** Использование моноклонального анти-CD20 антитела ритуксимаба в составе схем полихимиотерапии позволило значительно улучшить результаты лечения В-клеточных неходжкинских злокачественных лимфом (НХЗЛ). Но эффективность лечения ритуксимабом может зависеть от врожденных генетических полиморфизмов  $FC\gamma$ -рецепторов, носительство которых влияет на такой механизм действия моноклонального антитела, как антителозависимая клеточная цитотоксичность.

**Задачи исследования.** Оценить влияние полиморфного локуса  $FC\gamma$ -рецептора ( $FC\gamma IIIA$ ) на результаты терапии с использованием ритуксимаба у пациентов с индолентными и агрессивными НХЗЛ.

**Материалы и методы.** Группу обследованных составил 191 пациент Городского гематологического центра г. Новосибирска с диагнозом НХЗЛ. Агрессивные лимфомы верифицированы у 118 (61,8 %) больных, индолентные — у 73 (38,2 %). Все пациенты получили от 6 до 12 курсов полихимиотерапии с включением ритуксимаба. Генотипирование полиморфных локусов проводилось с помощью Taq-man ПЦР. Значимость различий оценивалась с помощью критерия  $\chi^2$ , статистически значимыми считались различия при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Распределение генотипов полиморфного локуса гена  $FC\gamma IIIA$  в группе агрессивных лимфом было следующим: «дикий» T/T генотип выявлен у 53 (45 %) пациентов, генотип T/G — у 57 (48,3 %), «редкий» G/G генотип — у 8 (6,7 %). В данной группе больных полный либо частичный ответ на терапию достигнут у 78,6 % пациентов, рецидив или прогрессирование заболевания отмечено у 21,4 %. При проведении статистического анализа не обнаружено влияния данного полиморфного локуса на результаты

терапии агрессивных лимфом. Среди пациентов с индолентными НХЗЛ «дикий» T/T генотип выявлен у 25 (35,6 %), генотип T/G — у 34 (46,6 %) больных, «редкий» G/G генотип — у 13 (17,8 %). В данной группе больных полный либо частичный ответ на терапию достигнут у 76,7 % пациентов, рецидив или прогрессирование заболевания отмечено у 23,3 % пациентов. Выявлено, что «редкий» генотип  $FC\gamma IIIA$  статистически значимо ассоциирован с неблагоприятным исходом заболевания ( $p < 0,05$ ) у пациентов с индолентными вариантами НХЗЛ.

**Выводы.** Показана взаимосвязь «редкого» генотипа полиморфного локуса  $FC\gamma IIIA$  с неудачей лечения в группе больных индолентными лимфомами, что позволяет рассматривать данный полиморфный локус как дополнительный фактор прогноза эффективности терапии моноклональным анти CD20-антителом ритуксимабом.

## Определение титра антител к химерному белку NPM-ALK в сыворотке пациентов с анапластической крупноклеточной лимфомой

Е.В. Райкина, Е.Ю. Осипова, Я.М. Байязнова,  
Н.В. Хрипкина, В.В. Фоминых, Н.В. Мякова  
ФГБУ НМИЦ «ДГОИ им. Дмитрия Рогачева»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** ALK + анапластическая крупноклеточная лимфома (ALK+АККЛ) — высокоиммуногенная опухоль, составляющая до 10 % всех лимфом детского возраста. В 80 % случаев она связана с транслокацией t(2;5)(p23;q35); частота рецидивов может достигать 30 %. Способность опухоли вырабатывать аутоантитела в совокупности с экспрессией химерного гена  $NPM1-ALK$  в крови влияет на выделение пациентов в группы различного биологического риска и может определять тактику терапии.

**Задачи исследования.** Воспроизведение методики определения титра аутоантител в сыворотке/плазме крови пациента к химерному белку NPM-ALK с целью стратификации по группам риска: подбор оптимальных условий для трансфекции клеток; определение собственно титра аутоантител; корреляция титра с результатами экспрессии химерного гена.

**Материалы и методы.** Цитопрепараты клеток линии COS1, трансфицированные плазмидным кДНК-вектором, содержащим  $NPM-ALK$  (Госпиталь св. Иуды, США), и пустым вектором в качестве контроля в течение 12–72 ч, обрабатывали сывороткой/плазмой пациентов в разведениях от 1:50 до 1:60750. Результатом определения титра антител являлось наибольшее разведение сыворотки/плазмы, при котором еще выявлялось

окрашивание при проведении непрямой иммунопероксидазной реакции. Экспрессию *NPM1-ALK* оценивали количественной ПЦР в режиме реального времени (RTQ-ПЦР).

**Результаты.** Проанализировано 11 образцов от 10 пациентов (10 образцов – на момент постановки диагноза и 2 в рецидиве). Подобрал оптимальное время трансфекции клеток, 72 ч, определили титр аутоантител: у первичных пациентов он составил 1:100 ( $n = 1$ ), 1:750 ( $n = 4$ ), 1:250 ( $n = 2$ ), 1:2250 ( $n = 2$ ), 1:6750 ( $n = 2$ ); у пациентов в рецидиве – 1:750. По данным RTQ-ПЦР на момент постановки диагноза химерный транскрипт определялся у 5 (42 %) пациентов, в рецидиве – в обоих случаях. У всех них титр антител составил 1:750.

Известно, что при АЛК + АККЛ при лечении по стандартному протоколу выделяют 3 биологические (b) группы с разным прогнозом (Mussolin L. et al. *Leukemia* 2013;27 (2):416–22). В нашей когорте пациентов 3 детей были отнесены к группе высокого риска (30 %), 3 (30 %) – к группе промежуточного риска (у 1 из них в последующем отмечен рецидив), 4 (40 %) – к группе низкого риска. Все пациенты в настоящее время продолжают терапию согласно пилотному протоколу, основанному на модифицированных группах риска.

**Выводы.** Предложенная методика оценки титра аутологичных антител к химерному белку *NPM-ALK* дает дополнительную информацию о факторах риска и позволяет внести коррективы в протокол терапии. Дальнейшие исследования позволят выявить значение данных факторов риска при модификации лечения.

## Судьба клеток линии K562 с фенотипом преждевременного старения, индуцированного доксорубицином в комбинации с терафталом и гемином

Т.А. Сидорова, В.В. Татарский, Д.А. Хоченков  
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

Доксорубин (DOX) широко используется в клинической онкологии. Его способность интеркалировать в ДНК, вызывать сшивки и разрывы макромолекулы лежит в основе препарат-специфического типа гибели опухолевых клеток по типу преждевременного старения (AS). Известно, что цитотоксичность DOX снижается в присутствии гемина (FePPIX), эндогенного вещества и терафтала (ТФ), компонента противоопухолевого средства – бинарной каталитической системы (ТФ + аскорбиновая кислота). В данном исследовании мы оценили способность ТФ/FePPIX защищать лейкозные клетки от гибели по AS-механизму, индуцированному DOX.

В работе использованы лейкозные клетки человека линии K562. AS-фенотип, индуцированный в клетках DOX ± ТФ/ FePPIX, оценивали с помощью проточной флуориметрии, световой микроскопии и цитохимического метода определения экспрессии β-галактозидазы с использованием в качестве субстрата X-Gal.

По нашим данным, воздействие DOX (25 мкмоль) в течение 48 ч вызывает остановку клеток линии K562 в фазе G2/M клеточного цикла (48 %). Клетки в блоке G2/M приобретают AS-фенотип: увеличиваются в размерах и в них индуцируется экспрессия лизосомального фермента β-галактозидазы. В условиях комбинации DOX с ТФ/ FePPIX доля клеток с блоком в G2/M и признаками AS-фенотипа снижается в 2 раза. AS-сценарий, индуцированный DOX в клетках линии K562, после удаления препаратов и последующей инкубации клеток в свежей среде в течение 10 дней завершается массовой гибелью клеток и появлением одиночных фибробластоподобных вариантов. В этих же условиях в присутствии ТФ/FePPIX на фоне погибших клеток видны колонии суспензионных «маленьких» клеток и островки эпителиальноподобных клеток. Согласно данным проточной флуориметрии в присутствии DOX ± ТФ/FePPIX базальный (низкий) уровень полиплоидных клеток в популяции линии K562 не изменяется, что исключает полиплоидию как механизм возобновления роста популяции.

Таким образом, ТФ и FePPIX защищают лейкозные клетки человека линии K562 от индукции в них доксорубицином AS-фенотипа и последующей гибели. Способность ТФ/ FePPIX вмешиваться в механизм действия DOX следует принимать во внимание при использовании фталоцианинов и гематопорфиринов в качестве фотосенсибилизаторов в клинических протоколах комбинированной фото- и химиотерапии.

## Исследование белка, связывающего ретиноевую кислоту, CRABP1, в клетках нейробластомы человека

А.М. Строганова, А.Д. Еникеев, Г.Ю. Чемерис,  
В.М. Сафронова, И.Б. Зборовская, Е.М. Чевкина  
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** Основной функцией белка CRABP1 является связывание ретиноевой кислоты (РК), однако значение этого связывания как для проведения РК-зависимых внутриклеточных сигналов, так и в отношении опухолевой прогрессии в целом остается малоизвестным. Показано, что данный белок может, с одной стороны, секвестрировать РК в цитоплазме, подавляя реализацию онкосупрессорной активности РК, с другой – активировать негеномную активность ядерных

рецепторов РК, стимулируя апоптоз. Возможно, этим объясняется противоречивость данных в отношении роли CRABP1 в патогенезе различных типов опухолей. Функциональное значение данного белка в прогрессии нейробластом ранее не исследовалось.

**Задачи исследования.** Анализ экспрессии белка CRABP1 в нейробластомах разной степени дифференцировки с наличием или отсутствием генетических нарушений, а также в различных клеточных линиях нейробластомы человека.

**Материалы и методы.** ИГХ-анализ на гистологическом материале (парафиновые блоки) от 46 пациентов, вестерн-блот анализ белка CRABP1 в клеточных линиях нейробластомы человека: IMR-32, SH-SY5Y, SK-N-AS.

**Результаты.** Обнаружена корреляция между уровнем экспрессии CRABP1 и степенью клеточной дифференцировки. В недифференцированных и низкодифференцированных нейробластомах экспрессия этого белка была ниже, чем в созревающих и зрелых опухолях, ганглионейробластомах и ганглионевромах. В группе незрелых нейробластом с генетическими абберациями (амплификация гена *N-myc*, делеции локусов 1p36 и 11q23) уровень экспрессии CRABP1 оказался снижен по сравнению с опухолями без хромосомных нарушений. В клеточных линиях нейробластомы обнаружен высокий уровень эндогенного CRABP1 в отличие от целого ряда опухолевых клеток другого происхождения, включая линии НМРЛ (A549, H1299, H463), глиобластомы (U87, LN229) и др.), где продукция данного белка, по нашим данным, не детектируется.

**Выводы.** Высокий уровень белка CRABP1 характерен для клеточных линий нейробластомы, что свидетельствует о значимости данного белка в патогенезе нейробластомы, хотя вопрос о роли CRABP1 (онкогенной или онкосупрессорной) в развитии данного заболевания остается открытым. Поскольку экспрессия CRABP1 в опухолевой ткани коррелирует с дифференцировкой опухолей и отсутствием генетических аббераций, увеличение его продукции может являться скорее фактором хорошего прогноза.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 16-04-01559).*

## Лейкоцитарная эластаза – маркер развития рецидива после радикальной простатэктомии

Е.А. Черногубова<sup>1,2</sup>, М.И. Коган<sup>1,2</sup>, М.Б. Чибичян<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт аридных зон Южного научного центра РАН, Ростов-на-Дону;

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону

**Задачи исследования.** Идентифицировать маркеры для прогнозирования риска развития рецидива РПЖ после радикальных методов лечения.

**Материалы и методы.** В исследование включено 59 пациентов с РПЖ (Т1с – 45 (76,3 %) больных, Т2а – 2 (3,4 %), Т2b – 7 (11,8 %), Т2с – 5 (8,5 %) пациентов), которым была выполнена радикальная простатэктомия (РПЭ) с последующим проведением ПСА-мониторинга через 1, 6, 12 и 18 мес после операции. Ретроспективно были стратифицированы группы пациентов с безрецидивным течением заболевания и с развитием биохимического рецидива. В сыворотке крови определяли активность лейкоцитарной эластазы (ЛЭ) (КФ 3.4.21.37), общую эластазоподобную активность (ОЭА) по скорости гидролиза N-третбутоксикарбонил-аланин-p-нитрофенилового эфира, ингибиторную активность  $\alpha_1$ -протеиназного ингибитора ( $\alpha_1$ -ПИ).

**Результаты.** Через 1 мес после РПЭ прогрессирование заболевания ассоциировано с истощением активности ЛЭ и ингибиторной активности  $\alpha_1$ -ПИ. Так, у пациентов с последующим развитием биохимического рецидива отмечается снижение активности ЛЭ ( $p < 0,001$ ) и ее основного ингибитора  $\alpha_1$ -ПИ ( $p < 0,001$ ) по сравнению с показателями у пациентов с безрецидивным течением заболевания. При этом у пациентов с агрессивным и неагрессивным течением заболевания не отмечено отличий в содержании комплекса эластаза-ингибитор (ОЭА), однако при оценке соотношения ОЭА/ $\alpha_1$ -ПИ показано, что у пациентов с агрессивными формами РПЖ оно в 1,9 раза выше, чем при безрецидивном течении заболевания. Дисбаланс в системе протеазы/ингибиторы отмечается уже через 1 мес после РПЭ, когда элевация ПСА еще не наступила. Это свидетельствует о дерегуляции протеолитических процессов при развитии клинически агрессивных форм РПЖ.

**Выводы.** Анализ системы регуляции активности ЛЭ позволяет на ранних этапах выделить пациентов с высоким риском развития рецидива РПЖ после хирургического лечения, что подтверждает тесную связь процессов воспаления с прогрессированием РПЖ, развитием его клинически агрессивных форм.

## Содержание матриксных металлопротеиназ в сыворотке крови больных новообразованиями костей

И.С. Черномаз<sup>1</sup>, А.В. Бондарев<sup>2</sup>, И.Н. Кузнецов<sup>1</sup>,  
М.Ю. Щупак<sup>2</sup>, И.В. Булычева<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ГБОУ ВПО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова»  
Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup> Московская городская онкологическая больница № 62  
Департамента здравоохранения г. Москвы;

<sup>3</sup> ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава  
России, Москва

**Введение.** Изучение продукции опухолями биологически активных веществ актуально не только для

поиска новых потенциальных мишеней ХТ, но и в оценке прогноза заболевания. В настоящее время известно, что во все этапы прогрессирования опухолевого процесса вовлечены матриксные металлопротеиназы (ММП).

**Задачи исследования.** Сравнительный анализ содержания ММП-2, -7, -9 и их тканевого ингибитора ТИМП-1 в сыворотке крови больных первичными опухолями костей и практически здоровых людей.

**Материалы и методы.** Обследовали 54 больных (29 мужчин, 25 женщин) с локализованной опухолью кости в возрасте от 14 до 59 лет: типичная остеосаркома ( $n = 21$ ), периостальная остеосаркома ( $n = 4$ ), саркома Юинга ( $n = 11$ ), первичная хондросаркома ( $n = 6$ ), недифференцированная плеоморфная саркома ( $n = 3$ ) и 9 больных пограничными новообразованиями (все гигантоклеточные опухоли кости). В группу контроля включили 26 практически здоровых людей (14 мужчин, 12 женщин) в возрасте от 13 до 54 лет. Концентрацию ТИМП-1 определяли в образцах сыворотки крови до лечения иммуноферментным методом с помощью реактивов фирмы «Biosource» (США), а ММП-2, ММП-7, ММП-9 – фирмы «R&D» (США).

**Результаты.** Уровни ТИМП-1 при типичной остеосаркоме и периостальной остеосаркоме были достоверно выше, чем у практически здоровых людей. Содержание ММП-9 при злокачественных опухолях костей было достоверно ниже, чем у практически здоровых людей. Выявлена прямая корреляция между содержанием ТИМП-1 и ММП-9 в сыворотке крови при типичной остеосаркоме, периостальной остеосаркоме и саркоме Юинга. Достоверных отличий в показателях общей 5-летней выживаемости при саркомах костей, и в частности при остеосаркоме, с учетом содержания ТИМП-1 и ММП-2, -7, -9 в сыворотке крови не выявлено. Однако при остеосаркоме общая 5-летняя выживаемость при содержании ММП-2  $>160$  нг/мл в сыворотке крови была в 1,6 раза выше, чем при более низких значениях ММП-2, а при ММП-9  $<377$  нг/мл – в 1,4 раза выше, чем при ММП-9  $>377$  нг/мл. Минимальные показатели общей 5-летней выживаемости (33 %) выявлены у пациентов с уровнями протеиназ ММП-2  $<160$  нг/мл и ММП-9  $>377$  нг/мл.

**Выводы.** Полученные данные могут служить предметом дальнейших исследований по определению клинической значимости уровней ММП-2, -7, -9 и ТИМП-1 в прогнозе клинического течения различных гистологических типов первичных злокачественных опухолей костей.

## Экзосомы плазмы крови больных множественной миеломой – источник потенциальных маркеров заболевания

В.Е. Шевченко<sup>1</sup>, А.С. Брюховецкий<sup>2</sup>, Ю.Д. Василец<sup>3</sup>, Т.И. Кушнир<sup>3</sup>, И.А. Кудрявцев<sup>1</sup>, Н.Е. Арноцкая<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup> Клиника восстановительной интервенционной неврологии и терапии «НейроВита», Москва;

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К.И. Скрябина»

**Введение.** Множественная миелома (ММ), генерализованная плазмцитомы – злокачественная опухоль из плазматических клеток. Отмечена важная роль экстраклеточных везикул, включая экзосомы (ЭК), в патогенезе этого заболевания. Использование белкового содержимого ЭК в качестве источника биомаркеров для диагностики начала заболевания и прогноза его течения практически не изучено.

**Задачи исследования.** Изучение протеома ЭК плазмы крови больных ММ для поиска потенциальных маркеров заболевания.

**Материалы и методы.** Использовали ЭК, выделенные дифференциальным центрифугированием из плазмы крови больных ММ и рассеянным склерозом (РС), для проведения сравнительного изучения методом наноВЭЖХ-МС/МС протеомов ЭК. Типирование ЭК проводили по маркерам CD9, CD63 и CD81.

**Результаты.** В лизатах ЭК идентифицировали 332 протеина, которые были подвергнуты сравнительному биоинформационному анализу по биологической роли в клетке, молекулярной функции и функциональному классу. При поиске потенциальных маркеров ММ использовали дифференциально экспрессированные белки, уровни которых в ЭК статистически значимо увеличивались более чем в 2 раза при ММ по сравнению с таковыми при рассеянном склерозе. Дополнительную фильтрацию дифференциально экспрессированных белков выполняли с использованием данных литературы по протеинам экстраклеточных везикул, секретлируемым клетками ММ и обнаруженным в экстраклеточных везикулах костного мозга человека. Потенциальные маркеры ММ, идентифицированные в ЭК, включали 15 протеинов, среди которых Annexin A2 и A6, RhoC, Basigin, Ezrin, Junctional adhesion molecule A, L-plastin и др.

**Выводы.** Экзосомы плазмы крови больных ММ являются перспективным источником маркеров этого заболевания. Обнаруженная панель потенциальных диагностических и прогностических маркеров ММ требует дополнительных исследований по их валидации.

## Влияние аллелей гена *CYP2D6* на течение и отдаленные результаты гормонотерапии тамоксифеном рака молочной железы

Т.А. Шендрикова<sup>1</sup>, М.Г. Филиппова<sup>1</sup>, С.М. Поргной<sup>2</sup>,  
Л.Н. Любченко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>Клиника пластической хирургии  
и косметологии *Frau Clinic*, Москва

**Введение.** Треть выявленного РМЖ приходится на возрастную группу 40–54 года (29,5 %). Гиперэкспрессия рецепторов эстрогенов наблюдается до 60 % случаев РМЖ у женщин в репродуктивном и пременопаузальном периодах и до 80 % у женщин в менопаузе. Для женщин в репродуктивном периоде и пременопаузе применение тамоксифена – стандарт лечения. Аллельные варианты гена *CYP2D6* участвуют в биотрансформации тамоксифена в действующее вещество эндоксифен. Гомо- и гетерозиготное носительство неактивных аллельных вариантов гена *CYP2D6* снижают биотрансформацию тамоксифена в эндоксифен.

**Задачи исследования.** Оценить корреляцию между различными генотипами гена *CYP2D6* и противоопухолевым эффектом тамоксифена у больных РМЖ.

**Материалы и методы.** В исследование включены 150 пациенток с IA–IIIC стадией РМЖ, получавшие тамоксифен 20 мг/сут в неадьювантном (в течение

2 нед предоперационно) и в адьювантном режиме. Длительность приема тамоксифена 20 мг/сут варьировала от 1 года до 6 лет. Проведен анализ ДНК, выделенной из лимфоцитов периферической крови, с целью генотипирования. Анализировалось строение гена цитохрома *CYP2D6* на наличие полиморфизмов *CYP2D6* \*3 2549delA, *CYP2D6*\*4 1846 G>A и *CYP2D6* \*6 1707delT. В зависимости от генотипа *CYP2D6*, пациенты были распределены на 3 группы: экстенсивные (ЭМ) – носители *wtCYP2D6* (дикого типа аллеля *CYP2D6*), интенсивные (ИМ) – гетерозиготы по неактивному аллелю и медленные метаболизаторы (ММ) тамоксифена – гомозиготы по неактивному аллелю. Для статистической обработки данных ИМ и ММ объединены в 1 группу – со сниженной метаболической активностью.

**Результаты.** Средний возраст больных в группе *wtCYP2D6* составил 45 лет ( $\pm 8,2$ ), в группе со сниженным метаболизмом – 44 года ( $\pm 9,2$ ). В исследовании 68,7 % больных (103/150) были классифицированы как ЭМ, 25,3 % (38/150) – ИМ, 6 % – ММ (9/150). Показаны статистически достоверные различия в частоте прогрессирования в зависимости от уровня метаболизма: 18,44 % в группе *wtCYP2D6*, 42,55 % в группе пациентов со сниженным метаболизмом (ОШ 3,2; 95 % ДИ 1,5–7,0;  $p < 0,05$ ). Десятилетняя безрецидивная выживаемость также достоверно ниже в группе гомо- и гетерозигот по нефункциональным аллелям *CYP2D6* по сравнению с группой носителей *wtCYP2D6* (ОШ 6,65; 95 % ДИ 76,83–102,92;  $p = 0,002$ ).

**Выводы.** *CYP2D6* генотипирование может быть использовано в качестве диагностического и прогностического теста.

## СЕКЦИЯ VII

ИММУНООНКОЛОГИЯ: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ  
И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ

## Доклады

Изучение факторов, определяющих  
чувствительность клеток  
меланомы человека  
к онколитическому вирусу кориЮ.И. Аммур<sup>1</sup>, А.В. Астапенко<sup>1</sup>, Л.Р. Романцова<sup>1</sup>,  
О.О. Рябая<sup>2</sup>, Т.В. Наседкина<sup>2,3</sup><sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин  
и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва;<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва;<sup>3</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии  
им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

**Введение.** Онколитические вирусы, включая живые аттенуированные вакцинные штаммы вируса кори, в последнее время все чаще рассматриваются в качестве терапевтических агентов, в перспективе эффективных в отношении неоплазий человека. Однако механизмы, лежащие в основе их селективного онколитического действия, полностью не изучены.

**Задачи исследования.** Установление параметров, определяющих чувствительность клеток меланомы человека к вакцинному штамму Л-16 вируса кори.

**Материалы и методы.** Данное исследование было проведено на 5 клеточных линиях метастатической меланомы человека и клетках фибробластов человека, использованных в качестве контроля. Клеточные линии заражали вирусом кори с различной множественностью заражения; динамику вирусной репродукции, оценку гибели клеток и уровень экспрессии генов отслеживали через 3–120 ч после заражения. Экспрессию белков на поверхности клеток определяли методом проточной цитометрии.

**Результаты.** Клеточные линии меланомы были перmissive для вируса кори с различной степенью чувствительности, несмотря на индукцию экспрессии интерферон-стимулированных генов (*ISGs*), однако

их экспрессионный паттерн различался. Так, для зараженной культуры клеток Mel 1br была характерна повышенная экспрессия гена *MxA* при снижении экспрессии гена *Cyclin D1*, а для зараженной культуры клеток Mel Mtr – повышенная экспрессия гена *OAS1* и *GIP3* при слабой экспрессии гена *MxA*. При этом все клеточные линии меланом, в отличие от нормальных фибробластов, экспрессировали на своей поверхности белки CD46 (17–94 %), являющиеся рецепторами вакцинных штаммов вируса кори.

**Выводы.** Уровень экспрессии белков-рецепторов на поверхности клеток и дефекты в ответе интерферона 1-го типа на вирусное заражение являются важными факторами, опосредующими чувствительность меланомы человека к вирусу кори. Следует отметить, что вирусная репродукция происходит быстрее, чем иммуноопосредованное выведение вируса, а для полноценного ингибирования вирусной репликации требуется совместная экспрессия *ISGs*, тогда как при их отдельной экспрессии они выступают в качестве проапоптотических сигналов, опосредуя гибель опухолевых клеток.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 14-35-00107).*

Трансгенные Т-клеточные рецепторы  
в лечении онкологических  
заболеванийД.Б. Казанский, Л.М. Хромых, А.А. Калинина, Ю.Ю. Силаева,  
М.А. Замкова, Н.А. Персиянцева, Л.Х. ДжолохаваФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

Репертуар Т-клеточных рецепторов и особенности их структуры критически влияют на эффективность иммунной защиты организма, включая иммунный надзор над возникновением и ростом клонов злокачественных

клеток. Преодоление иммунного надзора в ходе прогрессии опухоли является комплексным феноменом, главную роль в котором играет иммунная селекция клеток опухоли, приводящая к формированию фенотипа, «невидимого» иммунной системе. Исчезновение в ходе прогрессии опухолеспецифических (создаваемых мутациями) антигенов и появление опухолеассоциированных антигенов «места и времени», т. е. аутоантигенов, к которым иммунная система толерантна, становится ключевой проблемой лечения онкологических заболеваний, основанного на подходах иммунологии. Эту проблему можно определить как иммунодефицит, вызванный отсутствием среди клеток иммунной системы клонов, способных к высокоаффинному и специфическому взаимодействию с пептидами опухолеассоциированных антигенов, представляемых иммунной системе молекулами главного комплекса гистосовместимости.

Одним из возможных путей коррекции такого иммунодефицита является трансгенез цепей Т-клеточного рецептора, осуществляемый как на уровне эмбриона, так и ретровирусной трансдукцией Т-лимфоцитов пациента. Ранее нами были клонированы гены  $\beta$ - и  $\alpha$ -цепей TCR клеток памяти CD8<sup>+</sup>, специфичных к молекуле главного комплекса гистосовместимости H-2K<sup>b</sup>. В результате их внесения в геном оплодотворенной яйцеклетки получены трансгенные линии животных, которые могут быть использованы для моделирования взаимодействий опухолевых клеток с иммунной системой опухоленосителя. Животные, несущие трансгены  $\beta$ -цепи, имеют ослабленный иммунитет к клеткам опухоли, который приводит к их длительной персистенции в организме, сопровождающейся прогрессией, необратимой утратой опухолевыми клетками молекулы H-2K<sup>b</sup> и гибелью животных через 2–3 мес после трансплантации им опухолевых клеток. На этой модели удается проследить все 3 фазы взаимодействия опухоли с иммунной системой опухоленосителя: элиминацию, равновесие и ускользание, в ходе которых опухолевые клетки под давлением иммунной системы реципиента утрачивают экспрессию молекулы H-2K<sup>b</sup> и в итоге убивают опухоленосителя. Трансгены  $\alpha$ -цепи, напротив, ускоренно и антигенспецифически отторгают опухолевые клетки с динамикой вторичного иммунного ответа — в течение 3 дней. Нами показано, что эти 2 типа реагирования иммунной системы на клетки опухоли связаны как с активационным статусом Т-лимфоцитов, так и с процессами иммунорегуляции. Трансгены  $\beta$ -цепи характеризуются увеличенным содержанием в репертуаре наивных Т-лимфоцитов CD44<sup>lo</sup>CD62L<sup>hi</sup>, тогда как большинство Т-лимфоцитов трансгенов  $\alpha$ -цепи имеет профиль экспрессии этих маркеров CD44<sup>hi</sup>CD62L<sup>hi</sup>, характерный для долгоживущих клеток памяти (central memory cells).

## Уровень регуляторных Т-лимфоцитов после химиолучевого лечения лимфопролиферативных заболеваний

Т.Ю. Мушкарина, Е.Г. Кузьмина,  
Т.В. Константинова, Г.С. Неприна

МРНЦ им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ  
«НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск

**Введение.** Регуляторные Т-лимфоциты (Трег) поддерживают стабильное функциональное состояние иммунной системы, защищая организм от развития аутоиммунных процессов. Увеличение их числа представляет проблему для противоопухолевого иммунитета вследствие супрессии Трег-лимфоцитами иммунокомпетентных клеток. Возможно, эффективность лечения онкологических заболеваний может быть обусловлена нормализацией относительного и абсолютного содержания Трег-лимфоцитов с последующим восстановлением иммунореактивности.

**Задачи исследования.** Определение уровня Трег-лимфоцитов в дебюте заболевания больных лимфомой Ходжкина (ЛХ), В-клеточным хроническим лимфолейкозом (В-ХЛЛ); в дебюте, при рецидиве, локальном распространении и при выходе аберрантных клеток в циркуляцию крови при неходжкинских лимфомах (НХЛ); оценка реакции Трег-лимфоцитов на химиолучевую терапию.

**Материалы и методы.** Выполнено 134 исследования периферической крови больных с ЛХ (первичные — 19, после лечения — 10), НХЛ (локальные формы — 28, с выходом клона клеток в кровь — 6, после лечения — 12, рецидив — 13) и В-ХЛЛ (до лечения — 40, после лечения — 6). Контрольная группа — 40 практически здоровых людей. Трег-лимфоциты определены по фенотипу CD45+CD4+CD25+CD127-.

**Результаты.** В дебюте ЛХ, НХЛ и ХЛЛ уровень Трег-лимфоцитов по сравнению с нормой (3,69 %/0,031\*10<sup>9</sup>кл/л) составил соответственно 4,94 %/0,032\*10<sup>9</sup>кл/л; 7,09 %/0,051\*10<sup>9</sup> кл/л и 7,75 %/0,208\*10<sup>9</sup>кл/л. При локальной и лейкоэмических формах НХЛ процент и количество Трег-лимфоцитов превышают контрольные значения в среднем в 1,5–2,0 раза; при В-ХЛЛ относительный уровень Трег-лимфоцитов сопоставим с лейкоэмической формой НХЛ, а при рецидивах НХЛ относительное и абсолютное число Трег-лимфоцитов сопоставимо с показателями в дебюте заболевания (7,83 %/0,069\*10<sup>9</sup>кл/л,  $p > 0,05$ ). После лечения НХЛ доля Трег-лимфоцитов возрастала до 10,9 % ( $p < 0,05$ ), их число уменьшалось в 2 раза (до 0,026\*10<sup>9</sup>/л), у всех пациентов наблюдалась частичная ремиссия. После терапевтических мероприятий при В-ХЛЛ доля Трег оставалась прежней, без статистически значимой динамики (8,0 %), а число клеток уменьшалось на порядок (0,018\*10<sup>9</sup>кл/л), у большинства пациентов была достигнута ремиссия. После лечения ЛХ доля Трег-лимфоцитов возрастала до 9,1 %,

почти в 2 раза, а абсолютное число, напротив, уменьшалось почти в 2 раза ( $0,019 \cdot 10^9$ /л), при этом различий в относительном и абсолютном числе клеток в зависимости от полноты ответа не наблюдалось. Меньшая убыль Treg-лимфоцитов по сравнению с другими типами Т- и В-клеток, выявленная нами после лечения ЛХ, НХЛ и ХЛЛ в предыдущих исследованиях, свидетельствует об их относительной резистентности к использованным методам химиолучевого лечения.

## **Иммуномодулирующие свойства внеклеточных нуклеиновых кислот: роль в патогенезе и терапии онкологических заболеваний**

**Е.Ю. Рыкова<sup>1,2</sup>, А.В. Черепанова<sup>1</sup>, И.А. Запороженко<sup>1,3</sup>,  
В.В. Власов<sup>1</sup>, П.П. Лактионов<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной  
медицины СО РАН, Новосибирск;

<sup>2</sup>Новосибирский государственный технический университет;

<sup>3</sup>ФГБУ «НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России

Эндогенные внеклеточные ДНК, циркулирующие в крови (цирДНК), появляются в результате клеточной смерти (апоптоз, некроз) и секреции живыми клетками. ЦирДНК входят в состав мембранных частиц, комплексов с белками, липопротеинами, и в здоровом организме они не активируют иммунную систему, поскольку успешно элиминируются макрофагами. Однако в условиях, способствующих накоплению внеклеточных ДНК, их проникновение внутрь клеток может приводить к активации врожденного иммуни-

тета в результате взаимодействия с ДНК-связывающими рецепторами, такими как TLRs, RLRs и NLRs. Рецептор к дцДНК TLR-9 находится в эндосомах и может активироваться под действием неметилированных CpG-мотивов, которые отличают «хозяйскую» ДНК эукариотических клеток от чужеродной ДНК микроорганизмов, метилированной по CpG-мотивам. Существует также TLR-9 – независимый путь активации через сенсоры к ДНК, находящиеся в цитозоле, например STING-опосредованный путь ответа на инфекцию.

По нашим данным, фрагменты цирДНК при попадании в цитозоль клеток могут подавлять развитие дцРНК – индуцированной стимуляции иммунного ответа. В докладе обсуждается возможная роль содержащих цирДНК комплексов в патогенезе онкологических и аутоиммунных заболеваний. Фрагменты ДНК, содержащие неметилированные CpG-мотивы, имеют иммуномодулирующие свойства, которые позволяют использовать их в качестве адъювантов при антибактериальной и противораковой вакцинации. Клинические испытания с участием онкологических больных показали, что пептидные вакцины в комбинации с адъювантом на основе CpG-содержащего олигонуклеотида вызывают более сильный АГ-специфический иммунный ответ и Т-клеточный ответ CD8+, чем без адъюванта. Отмечено улучшение ответа на блокаду Programmed Death 1 (PD1) при использовании агонистов TLR9. Показана активация клеточного противоопухолевого иммунного ответа под действием агонистов STING-опосредованного пути. Накопленные результаты свидетельствуют о перспективности разработки таргетной противораковой терапии на основе иммуномодулирующих ДНК.

## Постеры

### Влияние доксорубицина на транскрипционный профиль раково-тестикулярных антигенов клеточной линии HeLa CCL-2

Д.И. Водолажский, Д.С. Кутилин, А.А. Пушкин, Е.В. Вереникина, Х.А. Могушкова, О.И. Кит

ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России, Ростов-на-Дону

**Введение.** Раково-тестикулярные антигены (РТА) — одна из групп опухолеассоциированных антигенов, которая почти не экспрессируется в зрелых соматических клетках, а ее появление может служить молекулярным маркером малигнизации ткани. Доксорубин в настоящее время продолжает использоваться в составе ХТ при раке шейки матки, при этом его влияние на экспрессию РТА и результаты последующей иммунотерапии остается неизученным.

**Задачи исследования.** Оценка влияния разных концентраций и времени экспозиции с доксорубицином на транскрипционный РТА-профиль клеток линии HeLa CCL-2.

**Материалы и методы.** Культуру клеток HeLa CCL-2 инкубировали в среде RPMI-1640 («Биолот», Россия) с 10 % фетальной телячьей сыворотки (Thermo Scientific NuClone, США) и гентамицином (50 мкг/мл) в условиях контролируемого 5 % CO<sub>2</sub> и 95 % влажности при 37 °С в инкубаторе СВ 150 (Binder, Германия). Режимы культивирования клеток с доксорубицином: 0 мкг/мл (контроль), 2 и 4 мкг/мл. Через 1, 5 и 24 ч клеточные линии снимали для подсчета количества мертвых клеток и анализа генной экспрессии.

Суммарную РНК выделяли по методу P. Chomczynski и N. Sacchi (2006). Для синтеза библиотеки кДНК использовали набор реагентов «Реверта-Л» («Интерлабсервис», Россия). Определение относительной экспрессии 17 генетических локусов (*MAGE-A1*, *MAGE-A2*, *MAGE-A3*, *MAGE-A4*, *MAGE-B1*, *MAGE-B2*, *GAGE1*, *GAGE3*, *GAGE4*, *MAGE-C1*, *BAGE*, *CTAG-1B*, *XAGE3*, *NY-ESO1*, *SSX2*, *SYCP1*, *PRAME1*) проводили методом количественной ПЦР в реальном времени (референсный ген — *GAPDH*) на термоциклере Bio-Rad CFX96 (Bio-Rad, США). Статистический анализ проводили с помощью программы Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США).

**Результаты.** В ходе исследования установлено, что фактор времени инкубации клеток и фактор концентрации доксорубицина совместно оказывают статистически значимое влияние ( $p < 0,005$ ) на экспрессию 13 (77 %) из 17 исследованных генов: *MAGEA1*, *MAGEA3*, *MAGEA4*, *MAGEB1*, *MAGEB2*, *GAGE1*, *GAGE3*, *BAGE*, *CTAG1B*, *XAGE3*, *NY-ESO1*, *PRAME1* и *SYCP1*.

Попарное сравнение групп (тест Newman–Keuls) по 2 факторам для каждого гена РТА относительно контроля выявило статистически значимые ( $p < 0,002$ ) различия в зависимости от режима эксперимента: 1) повышение экспрессии *XAGE3*, *NY-ESO1*, *GAGE3*; 2) угнетение экспрессии *MAGEB1*, *MAGEB2*, *BAGE*; 3) усиление или угнетение экспрессии *MAGEA1*, *MAGEA4*, *MAGEA3*, *SYCP1*, *GAGE1* и *SYCP1*.

**Выводы.** Данные эксперимента позволили выделить группы РТА: повышающие экспрессию под воздействием доксорубицина (*MAGEA1*, *MAGEA4*, *NY-ESO1*, *MAGEA3*, *SYCP1*, *XAGE3*); снижающие экспрессию под воздействием доксорубицина (*GAGE1* и *BAGE*), что может быть использовано в ходе создания и применения дендритно-клеточных вакцин. Гены РТА *SSX2*, *MAGEA2*, *GAGE4* и *MAGEC1* клеточной линии HeLa CCL-2, на экспрессию которых не оказали существенного влияния концентрация доксорубицина и длительность экспозиции, могут быть рекомендованы для иммунотерапии в качестве стабильной мишени.

### Участие шаперона HSP70 в межклеточных взаимодействиях опухолевых клеток и макрофагов

Л.В. Марченко<sup>1,2</sup>, И.В. Гужова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»

В настоящее время показано, что клеточный шаперон Hsp70 не только выполняет цитопротекторную функцию в опухолевых клетках (ОК), но также способен выделяться ими во внеклеточную среду в составе экзосом или в свободном состоянии и влиять на микроокружение опухоли, тем самым изменяя иммунный противоопухолевый ответ. До сих пор не выяснена роль Hsp70 в перепрограммировании опухолеассоциированных макрофагов (МФ) в M2-подобный фенотип, а также не изучены изменения, которые МФ вызывают у дефицитных в отношении Hsp70 ОК при сокультивировании.

На основе лентивирусной трансдукции нами были получены линии ОК с пониженным содержанием Hsp70 различного гистогенеза: А-431 и НСТ-116. Мы применяли сокультивирование ОК в соотношении 1:1 с клетками линии ТНР-1, являющимися моделью МФ, поэтапно пересекали «обученные» МФ к новым ОК, имитируя процесс прохождения МФ через опухоль.

Маркеры перехода МФ в проопухолевый фенотип в процессе сокультивирования с ОК, белков F4/80

и аргиназу-1 выявляли с помощью методов электрофореза и иммуноблоттинга. Уже на первых этапах сокультивирования экспрессия М2-маркеров повышалась в 3 раза независимо от уровня Hsp70 в ОК. Активность ММП2 и ММП9 опухолевых клеток после сокультивирования с МФ анализировали методом зимографии. ОК разного гистогенеза продемонстрировали разную способность к продукции ММП. В парах А431-ТНР1/А431kdHsp70-ТНР1 и НСТ116-ТНР1//НСТ116kdHsp70-ТНР1 уровень ММП резко возрастает после 1-го этапа и плавно снижается либо не изменяется после 2-го и 3-го этапов сокультивирования. За пролиферационными свойствами ОК наблюдали с помощью прибора xCELLigence RTCA DP (ACEA Biosciences, США) в режиме реального времени: после общения с наивными МФ ОК активно делились.

Таким образом, можно предположить, что вне зависимости от количества Hsp70 в ОК МФ начинают дифференцироваться в М2-проопухолевый фенотип, тем самым усиливая такие свойства злокачественности ОК, как пролиферация и инвазия, но у опухолевых клеток с пониженным Hsp70 эти свойства выражены слабее.

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

## Персонализированная иммуновиротерапия рака на основе онколитического вируса Сендай, белков теплового шока 70 и нетоксичных производных бактериальных липополисахаридов

С.Б. Оникиенко<sup>1</sup>, В.А. Черешнев<sup>2</sup>, А.В. Земляной<sup>1</sup>,  
Н.В. Бычкова<sup>3</sup>, В.Ю. Кравцов<sup>1</sup>, В.В. Лищенко<sup>3</sup>,  
И.В. Гужова<sup>4</sup>, Б.А. Маргулис<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова»  
Минобороны России, Санкт-Петербург;

<sup>2</sup>ФГАУ ВО «Уральский федеральный университет  
им. Б.Н. Ельцина», Екатеринбург;

<sup>3</sup>ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной  
медицины им. А.М. Никифорова» МЧС России,  
Санкт-Петербург;

<sup>4</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

**Введение.** Известно, что белки теплового шока с молекулярной массой 70 кДа (БТШ70) являются двойным ингибитором блокирующих противоопухолевый иммунный ответ рецепторов PD-1 и Tim-3 Т-лимфоцитов и повышают эффективность виротерапии. В иммунотерапии рака применяют лиганды TLR4-рецепторов — нетоксичные производные бактериальных липополисахаридов (ЛПС) и производные липида А.

**Задачи исследования.** Разработать технологию персонализированной иммуновиротерапии рака на основе

вируса Сендай (CeV), БТШ70 и нетоксичных производных бактериальных ЛПС под контролем индивидуальных показателей пациента в ходе лечения.

**Материалы и методы.** При уровне Т-лимфоцитов CD8+PD-1+ и CD8+PD-1+Tim-3+ в периферической крови менее 40 и 3 % соответственно вводили внутрикожно CeV (доза) еженедельно, 12 инъекций на курс лечения в участки кожи спины, облученные импульсно-периодическим инфракрасным лазером (плотность мощности 2–4 Вт/см<sup>2</sup>, экспозиция 2 мин). При уровне клеток CD8+PD-1+ более 40 % вводили БТШ70 в дозе 0,05 мг/кг, при его уровне ниже 40 % дополнительно назначали CeV внутрикожно еженедельно 12 инъекций на курс лечения. При содержании клеток CD8+PD-1+Tim-3+ более 3 % дополнительно к комбинации CeV и БТШ70 внутривенно вводили модифицированные ЛПС в дозе 0,01 мг/кг (нетоксичные производные продигозана, полученные при облучении пучком электронов с последующей ультрафильтрацией (заявка на патент РФ № 2017119461)). В цитологических препаратах определяли число раковых клеток с вирусоспецифическими изменениями (многоядерные клетки, гигантские ядра, массивная вакуолизация цитоплазмы) и признаками апоптоза. Критериями эффективности виротерапии являлись регрессия опухоли, выраженность цитопатических изменений в раковых клетках, уровень гранзима и перфорина в Т-лимфоцитах.

**Результаты.** Методом проточной цитометрии установлено, что введение БТШ70 опухоленосителям снижало число клеток CD3+CD8+PD-1+ в периферической крови в 1,8–2,7 раза, клеток CD3+CD8+PD-1+TIM-3+ — в 7,4–10,5 раза ( $p < 0,05$ ). Иммуноцитохимическим методом выявлено, что БТШ70 увеличивает число лимфоцитов без рецепторов PD-1 в опухолевом инфильтрате более чем в 3 раза; в них повышается уровень гранзима и перфорина, активируются иммунные механизмы гибели опухолевых клеток. В контрольной группе (изолированное применение CeV без учета индивидуальных показателей пациента) положительный эффект (частичный регресс) наблюдался у 7 из 77 человек. У пациентов с использованием персонализированной иммуновиротерапии частичный регресс опухоли произошел в 30 (52,6 %) из 57 случаев. После циторедуктивного хирургического лечения онкопатологии полный ответ на проведение персонализированной иммуновиротерапии получен у 6 (10,5 %) пациентов.

**Выводы.** Персонализированный подход к иммуновиротерапии рака на основе применения вируса сендай, лазерной мобилизации эндогенных БТШ70, применения экзогенных БТШ70 и нетоксичных производных бактериальных ЛПС с учетом динамики индивидуальных показателей пациента позволяет существенно повысить эффективность онколитической виротерапии.

## Фенотипические и транскрипционные особенности моноцитов крови при раке молочной железы в динамике предоперационной химиотерапии

М.Р. Патышева<sup>1</sup>, М.Н. Стахеева<sup>1</sup>, Н.А. Тарабановская<sup>1</sup>,  
Н.В. Чердынцева<sup>1,2</sup>, Е.М. Слонимская<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> НИИ онкологии, Томский НИМЦ;

<sup>2</sup> Национальный исследовательский Томский  
государственный университет;

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, Томск

**Введение.** При злокачественных новообразованиях основная часть опухолеассоциированных макрофагов образуется в результате привлечения моноцитов из периферической крови (Movahedi K. et al., 2010). Характер провоспалительной либо противовоспалительной активности опухолеассоциированных макрофагов может быть определен направлением М1/М2-поляризации их предшественников в системном кровотоке (Jakubzick С., 2017). Особенности развития онкологического процесса и проводимое противоопухолевое лечение, вероятно, оказывают влияние на статус моноцитов периферической крови и характер их последующей дифференцировки в макрофаги.

**Задачи исследования.** Оценить фенотипические и транскрипционные особенности моноцитов периферической крови у пациенток с РМЖ в динамике лечения в сравнении со здоровыми лицами.

**Материалы и методы.** В исследование вошли 12 пациенток с впервые диагностированным инвазивным РМЖ до и после предоперационной ХТ и 6 практически здоровых женщин. В периферической крови методом проточной цитофлуориметрии определены М1

(CD68+, CD119+, CD282+), М2 (CD163+, CD206+, CD124+, Stabilin1+) и продуцирующие IL-1, TNF- $\alpha$  моноциты. Экспрессия генов *IL-1 $\beta$* , *IL-6*, *TNF- $\alpha$*  (М1) и *YLK39*, *YLK40*, *SI-CLP*, *Stabilin1* (М2) оценивалась методом количественной ПЦР в популяции моноцитов (CD14+), полученных с помощью метода магнитной сепарации из периферической крови.

**Результаты.** Проведенное исследование выявило повышение содержания моноцитов CD68+ до 1,45 % при РМЖ в сравнении с уровнем группы контроля (0,38 %,  $p = 0,0078$ ) и снижение экспрессии исследуемых генов в моноцитах больных РМЖ (*IL-1 $\beta$*  – 0,024, *IL-6* – 0,07, *TNF- $\alpha$*  – 0,26) относительно значений группы здоровых лиц ( $p < 0,05$ ). При трижды негативном РМЖ отмечено повышение уровня моноцитов, продуцирующих IL-1, в 10 раз и гипоэкспрессия гена *IL-6* по сравнению с этим показателем при люминальных типах ( $p < 0,05$ ). Вовлечение регионарных лимфатических узлов (N1) сопровождалось статистически значимым увеличением следующих субпопуляций моноцитов: CD119+ – в 1,34 раза, CD124+ – в 29 раз, CD163+ – в 119 раз, снижением *Stabilin1+* в 3 раза и уменьшением экспрессии генов *IL-1 $\beta$*  в 5 раз, *TNF- $\alpha$*  – в 7 раз, *SI-CLP* – в 1,75 раза. До и после предоперационной ХТ не выявлено различий исследуемых параметров, однако после проведения химиотерапевтического лечения уровень экспрессии гена *IL-1 $\beta$*  в моноцитах при Т2 стал в 5 раз меньше по сравнению с Т1.

**Выводы.** При РМЖ наблюдаются изменения молекулярных характеристик моноцитов периферической крови как в звене М1, так и в М2, при этом в наибольшей степени на них оказывает влияние степень метастатического поражения лимфатических узлов. При трижды негативном РМЖ имеются особенности в молекулярном профиле моноцитов.

Работа выполнена при финансовой поддержке  
РФФИ (грант № 16-54-76015/16).

## Тезисы

### Транскрипционный профиль раково-тестикулярных антигенов у больных раком тела матки

Д.И. Водолажский, Д.С. Кутилин, Х.А. Могушкова, О.И. Кит  
ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России, Ростов-на-Дону

**Введение.** Во всем мире ежегодно диагностируют около 320 тыс. случаев рака тела матки (РТМ) и 76 тыс. смертельных исходов, что делает его 6-м по распространенности среди женщин онкологическим заболеванием. Одним из возможных подходов к профилактике рецидивов РТМ является иммунотерапия. Раково-тестикулярные антигены (РТА), слабо экспрессирующиеся нормальными соматическими клетками и гиперэкспрессирующиеся раковыми клетками, могут быть высокоспецифичной и эффективной мишенью для иммунотерапии. Однако иммунотерапевтические подходы, направленные на РТА при РТМ, находятся в начальной стадии разработок.

**Задачи исследования.** Скрининг РТА, специфичных для опухолевой ткани тела матки, на основании анализа паттерна транскрипционных профилей раково-тестикулярных генов у пациенток с РТМ.

**Материалы и методы.** В исследовании использовали парные операционные биоптаты нормальных и опухолевых тканей тела матки 15 пациенток (всего 30 образцов) с гистологически подтвержденным диагнозом РТМ, проживающих на юге России и проходивших лечение в ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России. Суммарную РНК из тканей выделяли по методу P. Chomczynski и N. Sacchi (2006). Для синтеза библиотеки кДНК использовали набор реагентов «Реверта-Л» («Интерлаб-сервис», Россия). Праймеры разработали с применением базы данных NCBI GenBank (США). Относительную экспрессию 16 генетических локусов (*MAGE-A1*, *MAGE-A2*, *MAGE-A3*, *MAGE-A4*, *MAGE-B1*, *MAGE-B2*, *GAGE1*, *GAGE3*, *GAGE4*, *MAGE-C1*, *BAGE*, *XAGE3*, *NY-ESO1*, *SSX2*, *SYCP1*, *PRAME1*) определяли методом количественной ПЦР в реальном времени (референсный ген – *GAPDH*) на термоциклере Bio-Rad CFX96 (Bio-Rad, США). Статистический анализ проводили с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни.

**Результаты.** Установлено статистически значимое ( $p < 0,05$ ) увеличение экспрессии генов РТА в опухолевой ткани тела матки по сравнению с неопухолевой прилежащей тканью: *MAGE-A2* – в 6,1 раза, *MAGE-A3* – в 2,3 раза, *MAGE-B2* – в 2,1 раза, *GAGE4* – в 2,6 раза, *NY-ESO1* – в 2,1 раза, *SSX2* – в 7,2 раза, *SYCP1* – в 3,2 раза. Статистически значимых изменений экспрессии других генов РТА не выявлено.

**Выводы.** Обнаруженное в ходе исследования увеличение экспрессии 7 генов РТА (*MAGE-A2*, *MAGE-A3*, *MAGE-B2*, *GAGE4*, *NY-ESO1*, *SSX2* и *SYCP1*) создает предпосылки для их использования в качестве наиболее эффективных мишеней при иммунотерапии РТМ.

### Уровень цитокинов при активации лимфоцитов *ex vivo* для клеточной иммунотерапии

Ю.В. Гельм, Е.В. Абакушина

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии»  
Минздрава России, Обнинск

**Введение.** Перспективным методом иммунотерапии в онкологии является адоптивная иммунотерапия активированными цитотоксическими Т-лимфоцитами и НК-клетками, полученными при культивировании *ex vivo* в присутствии цитокинов. Чтобы получить пул активированных лимфоцитов, необходимо выявить оптимальные условия их культивирования по оценке их количества и функциональной активности.

**Задачи исследования.** Изучить влияние интерлейкинов (ИЛ-2 и ИЛ-15) на выработку молекул цитокинов лимфоцитами доноров в процессе их активации *ex vivo*.

**Материалы и методы.** Изучены кондиционные среды, полученные в результате активации мононуклеарных клеток 15 доноров. Среда выделяли по стандартной методике на градиенте плотности и культивировали в присутствии цитокинов в течение 12 сут. Мононуклеарные клетки активировали в среде с ИЛ-2 (250 МЕ/мл) и ИЛ-15 (50 нг/мл), как было первоначально показано для больных меланомой. Уровень цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ИФН- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$ ) определяли на 3, 7 и 12-й день активации методом иммуноферментного анализа по инструкции производителя («Вектор-Бест», Россия).

**Результаты.** Адгезия лимфоцитов доноров к поверхности культурального флакона наблюдалась уже с 1–2-го дня культивирования, формирование групп клеток в процессе роста – со 2–3-го дня, т. е. от клеток больных меланомой их отличает более выраженная пролиферативная активность и способность к более ранней активации. На 3-й день культивирования в кондиционных средах группы доноров определялись значительные концентрации ИЛ-6, ИЛ-2, ИФН- $\gamma$ , составлявшие 300–350 пг/мл, меньшие уровни ИЛ-10 (76 пг/мл), ИЛ-4 (3 пг/мл), ИФН- $\alpha$  (2,25 пг/мл). Концентрации всех цитокинов к 7-му дню статистически значимо выросли по сравнению с 3-м днем: ИЛ-6, ИФН- $\alpha$ ,

ИФН- $\gamma$  – в 2–3 раза, ИЛ-10 и ИЛ-4 – в 6 и 30 раз соответственно (для всех  $p < 0,01$ ), что свидетельствует об увеличении числа активированных лимфоцитов и их секреторной активности. Темп возрастания числа клеток в течение всего времени культивирования в группе доноров был выше в 2 раза. Кроме того, показано, что лимфоциты доноров, в отличие от клеток больных меланомой, обладают более высоким уровнем жизнеспособности (на 3-й день – 100 %, на 7-й день – 95,4 % и к 12-му дню – 94,7 %). Это позволяет увеличить сроки культивирования клеток и их активационный потенциал, что является важным фактором при проведении адоптивной иммунотерапии у онкологических больных.

**Выводы.** Лимфоциты, полученные от здоровых доноров, обладают рядом преимуществ по сравнению с лимфоцитами онкологических больных. Показано, что оптимальным условием для активации мононуклеарных клеток является присутствие в культуральной среде двух цитокинов – ИЛ-2 и ИЛ-15.

## Онкоиммунологические аспекты органеллографической патч-кламп-спектроскопии как инструмента диагностики

О.В. Градов, А.А. Скрынник, А.Г. Яблоков

ФГБУН «Институт энергетических проблем химической физики им. В.Л. Тальрозе» РАН, Москва

Общеизвестна связь митохондрий с формированием врожденного (PMID: 16143094; 21799518; 21874912) и приобретенного (PMID: 25786173) иммунитета: антимикробного (PMID: 22402669; 28283579; 25274306) и противовирусного (PMID: 22003438; 20451243; 27304497; 23819391; 22440325; 22664327; 16143094); не только в энергетическом ключе (PMID: 28418387), но и в цитофизиологическом аспекте – формирование как вирусных деградосом (PMID: 23877405), так и воспалительных инфламмосом (PMID: 23502856; 23538931; 24639113) сопряжено с деятельностью митохондрий. Вместе с тем известно, что опосредованный митохондриями иммунитет связан с активностью специфических ионных каналов и пор: порины, колокализующиеся с митохондриями клеток-мишеней, действуют как адьюванты в иммунной реакции посредством активации В-лимфоцитов (PMID: 12598131); ряд вирусных инфекций сопряжен с транслокацией ряда вирусных порообразующих белков, таких как Tom40 (PMID: 25140902), в мембраны хондриома; в основе биоцидного действия ряда препаратов положен эффект открытия каналов и пор митохондриальных мембран таргетных клеток (например, антимикробными пептидами врожденного иммунитета VMAP-28 (PMID: 11865069)); митохондриальные структуры являются

таргетными в клеточном и гуморальном аутоиммунитете (PMID: 15879615). В связи с этим рациональной представляется регистрация деятельности этих каналов митохондрий – как для анализа биохимических/гуморальных факторов экспрессии в вирусном онкогенезе (PMID: 23743354; 24136075), так и для квантификации эффективности терапии, а также корреляционных рисков, связанных с ролью нативного микробиома в колоректальном онкогенезе (PMID: 28455972; 27790385). Аналогичное утверждение корректно для ряда экзотических форм аутоиммунного онкогенеза (при паранеопластической пузырчатке и др. (PMID: 26179266)). Активность каналов хондриома может лежать в основе эффекта бифуркационного переключения онкогенеза, анализируемого с онкоиммунологических позиций (PMID: 1298347). Нами предлагается программно-аппаратная имплементация данного подхода с использованием средств зондовой микроскопии, в том числе когда патч-кламп-капилляр одновременно является сверхразрешающим СБОМ-волноводом (в том числе для ближнепольной  $\mu$ -спектроскопии (PMID: 22964689), но в UV-, Vis-, IR-диапазонах).

## Использование спинномозговой анестезии в комплексе программы ускоренного восстановления при операциях по поводу колоректального рака способствует снижению ранних супрессивных иммунных реакций и системного воспаления

Е.Г. Кузьмина, Д.В. Земскова, А.Л. Потапов, О.Е. Ватин, Т.Ю. Мушкарина

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск

**Задачи исследования.** Оценить реакцию иммунитета в раннем периоде после лапароскопических вмешательств по поводу колоректального рака, проводимых по программе ускоренного восстановления (ПУВ) с использованием спинномозговой анестезии.

**Материалы и методы.** У 45 пациентов выполнены объемные хирургические вмешательства по поводу колоректального рака. Больных 1-й группы ( $n = 22$ ) вели по ПУВ: оперировали через лапароскопический доступ, использовали общую анестезию, дополненную спинномозговой анестезией с 10,0–12,5 мг бупивакаина и 0,2 мг морфина, проводили раннюю активизацию и пероральный прием жидкости и пищи (в 1-е сутки). Пациентов 2-й группы ( $n = 23$ ) вели традиционно: оперировали через открытый доступ, использовали общую анестезию без регионарных методов, системную

аналгезию опиоидами, планировали активизацию и начало перорального приема жидкости и пищи на 2–3-и сутки после операции. Больные обследованы до операции, через 2 ч, 2 сут и 3–5 сут после операции. Анализировали число лейкоцитов крови (Лц), относительное и абсолютное число лимфоцитов (Лф), в сыворотке крови методом ИФА определяли индуцированный лечением уровень про- и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-10). Интенсивность боли оценивали по визуально-аналоговой шкале и количеству использованных наркотических анальгетиков в 1-е сутки после операции.

**Результаты.** В обеих группах у части пациентов в дооперационном периоде в иммунном статусе выявлялись воспалительные и супрессивные компоненты (повышение Лц и ИЛ-6, ИЛ-10). В ходе ПУВ через 2 ч воспалительная реакция и супрессия иммунитета были значительными (лейкоцитоз, повышение дооперационного уровня ИЛ-6 и ИЛ-10 в 10 и 7 раз соответственно); они значимо снижались на 2-й день послеоперационного периода (Лц – до нормы, ИЛ-10 – до исходного уровня, ИЛ-6 – в 4 раза превышал его). При стандартной терапии снижение высокой послеоперационной реакции проходило медленнее, анализируемые показатели приблизились к показателям группы ПУВ только на 4–5-е сутки наблюдения. В 1-й группе интенсивность боли в послеоперационном периоде была существенно меньше, что позволило сократить применение наркотических анальгетиков на 60–80 %, а в некоторых случаях вообще отказаться от их введения.

**Выводы.** Использование спинномозговой анестезии в ПУВ у пациентов, оперируемых по поводу колоректального рака, существенно снижает длительность иммуносупрессивной и системной воспалительной реакции в раннем послеоперационном периоде. Подобные изменения могут быть связаны с уменьшением операционной травмы, повышением качества периоперационной аналгезии и сокращением применения наркотических анальгетиков.

## Изменения моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 при раке желудка

Л.В. Матвеева

ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва», Саранск

**Введение.** Моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1 (MCP-1) относится к подсемейству CC хемокинов. Синтез MCP-1 могут индуцировать липополисахариды бактерий и ряд провоспалительных цитокинов. Считается, что MCP-1 регулирует миграцию и инфильтрацию тканей моноцитами, Т-лимфоцитами памяти, натуральными киллерными клетками, активирует IL-4.

Имеются данные о двойной роли MCP-1 при опухолевом процессе: в начале опухолевого роста – иммунобиологический надзор, в дальнейшем – поддержание роста и метастазирования опухоли.

**Задачи исследования.** Определить сывороточный уровень MCP-1 у больных раком желудка.

**Материалы и методы.** При информированном согласии обследовали 40 больных раком желудка и 40 практически здоровых добровольцев (контрольная группа). Диагноз устанавливали на основании данных анамнеза, клинических проявлений, подтверждали с помощью физикальных, биохимических, эндоскопических, ультразвуковых, морфологических методов. Кровь для иммунологического исследования забирали в утренние часы натощак из локтевой вены в объеме 5 мл в пробирку без консервантов. Сыворотка выделялась центрифугированием, помещалась в стерильные пробирки, хранилась при температуре не выше  $-20^{\circ}\text{C}$  до ИФА, который проводили с применением реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (Россия). При статистической обработке данных вычисляли коэффициент ранговой корреляции Спирмена ( $r_s$ ).

**Результаты.** Среди 40 больных раком желудка II стадия опухолевого процесса диагностирована у 27,5 %, III – у 37,5 %, IV – у 35 %. При гистологическом исследовании в 82,5 % случаев обнаружена аденокарцинома разной степени дифференцировки, в 17,5 % – перстневидноклеточный рак. Сывороточный уровень MCP-1 у 2 (5 %) больных раком желудка находился на верхней границе нормы (278 пг/мл), у 31 (77,5 %) превышал ее, а в среднем по группе составил  $344,3 \pm 27,5$  пг/мл, что было больше значений контрольной группы на 282,1 % ( $p < 0,001$ ). Наибольшие до- и послеоперационные значения показателя определены при низкодифференцированной аденокарциноме, наименьшие – при высокодифференцированной аденокарциноме. Уровень MCP-1 в сыворотке крови больных раком желудка был сильно связан со стадией опухолевого процесса ( $r_s = +0,871$ ,  $p < 0,01$ ).

**Выводы.** Превышение верхней границы нормальных значений MCP-1 у 77,5 % больных раком желудка, сильная положительная корреляционная связь со стадией опухолевого процесса указывают на диагностическую ценность определения его сывороточного уровня при данной локализации опухоли.

## Связь *Helicobacter pylori* и моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 при раке желудка

Л.В. Матвеева, А.Н. Чудайкин

ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва», Саранск

**Введение.** Моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1 (MCP-1) относится к подсемейству CC хемокинов и продуцируется многими клетками организма. Ранее установлено, что *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) стимулирует секрецию MCP-1 эпителиоцитами желудка.

**Задачи исследования.** Определить сывороточный уровень MCP-1 и сопоставить его с инфицированностью *H. pylori* при раке желудка.

**Материалы и методы.** Обследовали 40 больных раком желудка и 40 практически здоровых добровольцев (контрольная группа), которые дали информированное согласие на участие. Диагноз устанавливали на основании данных анамнеза, клинических проявлений, подтверждали с помощью физикальных, биохимических, эндоскопических, ультразвуковых, морфологических методов. Экспресс-диагностика *H. pylori* дыхательным методом проводилась с помощью тест-системы «Хелик<sup>®</sup>» с индикаторной трубкой (ООО «АМА», Россия). Уреазную активность *H. pylori* в гастробиоптатах оценивали при помощи тест-системы «Хелпил<sup>®</sup>» (Бланк) (ООО «АМА», Россия). Кровь на иммунологическое обследование забирали в утренние часы натощак из локтевой вены в объеме 5 мл в пробирку без консервантов, сыворотку выделяли центрифугированием. При иммуноферментном анализе определяли уровень MCP-1, титр суммарных антител (IgG + IgM + IgA) к цитотоксин-ассоциированному протеину (CAT к CagA) *H. pylori* с применением наборов реагентов («Вектор-Бест», Россия). При статистической обработке данных вычисляли коэффициент ранговой корреляции Спирмена ( $r_s$ ).

**Результаты.** В контрольной группе CAT к CagA *H. pylori* выявлены в 27,5 % случаев: в титре менее 1:5 — у 3 (7,5 %), 1:5 — у 8 (20 %) обследованных. У больных раком желудка CAT к CagA *H. pylori* обнаружены в титре менее 1:5 — у 10 %, 1:5 — у 15 %, от 1:10 до 1:20 — у 37,5 %, 1:40 — у 5 % (сильно положительный результат). Уровень MCP-1 в сыворотке крови обследованных имел сильную положительную корреляцию с титрами CAT к CagA *H. pylori* у здоровых лиц ( $r_s = +0,794, p < 0,01$ ) и у больных раком желудка ( $r_s = +0,778, p < 0,01$ ), что объясняется стимуляцией липополисахаридом клеточной стенки бактерии выработки данного цитокина клетками-продуцентами.

**Выводы.** Определение у больных раком желудка сывороточного уровня MCP-1 и сопоставление значений показателя с титрами суммарных антител к цитоток-

син-ассоциированному протеину *H. pylori* прогностически значимо, так как позволяет оценить выраженность индукционного сигнала к цитокинопродукции и, как следствие, к реализации его функциональной активности.

## Применение макроциклических эллаготаннинов для стимулирования В-клеточного ответа против PRAME

В.А. Мисюрин<sup>1</sup>, С.А. Сасов<sup>1</sup>, Ю.П. Финашуткина<sup>1</sup>, Н.А. Лыжко<sup>1</sup>, Н.Н. Тогоева<sup>1</sup>, В.Н. Толкачев<sup>1</sup>, Т.А. Алиева<sup>1</sup>, Е.Н. Бедрина<sup>1</sup>, О.Н. Толкачев<sup>2</sup>, О.Н. Солопова<sup>1</sup>, Л.А. Кесаева<sup>1</sup>, А.В. Мисюрин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО МГАВМиБ — МВА им. К.И. Скрябина, Москва

**Введение.** Известно, что при развитии PRAME-экспрессирующих онкологических заболеваний в организме многих больных появляются Т-клетки, распознающие эпитопы PRAME. В единичных случаях это приводит к спонтанной ремиссии заболевания. Формирование В-клеточного ответа против PRAME происходит крайне редко. Применение новых препаратов, таких как макроциклические эллаготаннины из *Chamaenerion angustifolium* (L.) (иван-чая), в качестве адьюванта может способствовать развитию В-клеточного ответа.

**Задачи исследования.** Оценка влияния димерных (хаменерин I), тримерных (хаменерин II) и высших олигомерных макроциклических эллаготаннинов на развитие В-клеточного ответа против белка PRAME у мышей.

**Материалы и методы.** В эксперимент включены 18 мышей линии Black. Для сравнения были составлены следующие композиции: а) 25 мкг хаменерина I + PRAME; б) 25 мкг хаменерина II + PRAME; в) Al(OH)<sub>3</sub> + PRAME (положительный контроль традиционного адьюванта); г) 25 мкг суммы высших олигомерных макроциклических эллаготаннинов + PRAME; д) чистый белок PRAME (отрицательный контроль для адьюванта); е) отрицательный контроль без иммунизации. Концентрация белка PRAME при каждом введении — 50 мкг. Объем композиции — 500 мкл. После 3-кратного введения с интервалом в 2 нед мышей выводили из эксперимента, выделяли сыворотку. В-клеточный ответ оценивали по интенсивности окрашивания PRAME-экспрессирующей линии клеток К-562 полученными сыворотками. Группы сравнивали с использованием U-критерия Манна—Уитни.

**Результаты.** Сыворотка, полученная от мышей, иммунизированных композицией с хаменерином I и хаменерином II, окрасила клетки более интенсивно,

чем сыворотка контрольных мышей ( $p = 0,0282$  для обоих экспериментов). При использовании суммы высших олигомерных таннинов В-клеточный ответ был менее интенсивным ( $p > 0,1$ ).

**Выводы.** Установлена возможность использования димерных и тримерных макроциклических галлоэллаготаннинов для стимулирования В-клеточного ответа. Макроциклические галлоэллаготаннины больших размеров для данных задач не подходят.

## Степень выраженности системной воспалительной реакции у больных агрессивными вариантами неходжкинских злокачественных лимфом в дебюте заболевания

О.Б. Серегина, Т.Н. Бабаева, Т.И. Поспелова, Н.В. Скворцова  
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России, Новосибирск

**Введение.** Провоспалительные цитокины, продуцируемые опухолью и иммунокомпетентными клетками ее микроокружения, являются фактором первичной системной альтерации, которая приводит к развитию системного воспаления, а именно к активации эндотелиоцитов и сосудистых макрофагов. Острая системная воспалительная реакция способствует метастазированию опухоли, а также развитию тромботических осложнений.

**Задачи исследования.** Исследовать уровень маркеров системного воспаления и противовоспалительной резистентности в сыворотке крови больных агрессивными вариантами неходжкинских злокачественных лимфом (НХЗЛ) в дебюте заболевания.

**Материалы и методы.** На базе Новосибирского городского гематологического центра был обследован 81 больной агрессивными НХЗЛ до начала терапии. Определяли уровень маркеров системной воспалительной реакции – провоспалительных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  и IL-6) и острофазовых белков (С-реактивного белка и фибриногена). Для оценки противовоспалительной резистентности организма исследовался уровень противовоспалительного цитокина IL-4 в сыворотке крови больных. Группу контроля составили 20 практически здоровых добровольцев.

**Результаты.** У пациентов с агрессивными лимфомами отмечалось повышение среднего уровня провоспалительных цитокинов в сыворотке крови – TNF- $\alpha$  ( $p < 0,01$ ), IL-6 ( $p < 0,01$ ), IL-1 $\beta$  ( $p < 0,01$ ) и уровня острофазовых белков – фибриногена ( $p < 0,01$ ) и С-реактивного белка ( $p < 0,05$ ) по сравнению с показателями группы контроля. Средний уровень противовоспалительного цитокина IL-4 не отличался от такового в группе контроля ( $p > 0,05$ ).

**Выводы.** Полученные результаты указывают на наличие у пациентов, страдающих агрессивными лимфо-

мами, в дебюте заболевания значительного количества биологически активных факторов – провоспалительных цитокинов, что приводит к развитию системной воспалительной реакции, активации эндотелиоцитов и началу острофазового ответа, проявляющегося в повышении уровня острофазовых белков. В ответ на это не происходит повышения уровня противовоспалительных цитокинов, что говорит о снижении противовоспалительной резистентности и развитии цитокинового дисбаланса с преобладанием провоспалительных цитокинов.

## Адоптивный иммунитет в организме после введения неживых спленоцитов-доноров. Антигенпредставляющие клетки

С.В. Хабаров

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** В настоящее время в иммунотерапии рака широко применяется адоптивный иммунитет (АИ), который развивается после введения в организм реципиента живых иммунокомпетентных клеток-доноров. Однако, по-видимому, существует и другой вид АИ – усвоенный, перенятый, когда изменяется иммунитет самого хозяина-реципиента: изменяются и генерируются именно реципиентные клетки. Усвоенный АИ образуется и наиболее ярко проявляется в организме реципиента после введения в него неживых иммунокомпетентных клеток-доноров. Автором была предложена гипотеза, предполагающая участие в механизме АИ феномена усвоенного АИ.

**Задачи исследования.** Проверить возможность образования АИ в селезенке мыши после введения инактивированных нагреванием ИКК-доноров, в частности выявление роли антиген-представляющих клеток в этих процессах.

**Материалы и методы.** Изучение АИ проводилось после внутрибрюшинного введения интактным мышам линии DBA/2 спленоцитов-доноров, выделенных из разных групп мышей, предварительно иммунизированных убитыми клетками лейкоза P388. Перед введением спленоциты-доноры инактивировались нагреванием. Через несколько суток из мышей выделялись спленоциты, анализировались методом проточной цитофлуориметрии с использованием маркеров В-лимфоцитов (антиген CD20), макрофагов (антиген CD11b), натуральных киллеров (антиген NK1.1) и маркера активации (антиген CD38). Для изучения фенотипа спленоцитов мыши использовалась двойная метка и квадрантный гейт.

**Результаты.** В селезенке интактных животных после введения неживых спленоцитов-доноров, ранее

активированных лейкозом Р388, наблюдается образование и активация реципиентных В-лимфоцитов и макрофагов. Кроме того, увеличивается количество и активация натуральных киллеров. Автор считает, что они тоже являются антиген-представляющими клетками, так как обладают эндоцитозом.

**Выводы.** Иммунный ответ организма реципиента образуется после введения в него инактивированных нагреванием клеток-доноров, и в этих процессах антиген-представляющие клетки организма активно участвуют. Скорее всего, после введения живых доноров в организме реципиента образуется и усвоенный АИ, и именно этот АИ определяет окончательный иммунный ответ.

## Адоптивный иммунитет в организме после введения неживых спленоцитов-доноров. Т-киллеры

С. В. Хабаров

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** Адоптивный иммунитет (АИ), образующийся при введении в организм живых иммунокомпетентных клеток-доноров, широко применяется в иммунотерапии рака. Получены обнадеживающие результаты в лечении различных опухолей, наблюдалась даже их регрессия, частичная или полная. По этой причине изучение механизмов образования АИ очень актуально. Однако АИ образуется, по-видимому, и после введения неживых иммунокомпетентных клеток-доноров, неспособных размножаться.

**Задачи исследования.** Проверить гипотезу о формировании АИ при введении неживых иммунокомпетентных клеток-доноров.

**Материалы и методы.** Для измерения цитотоксической активности Т-лимфоциты выделялись у разных групп мышей на колонке с нейлоновой ватой. Цитотоксическая активность Т-лимфоцитов реципиента против клеток лейкоза Р388 определялась в среде инкубации методом МТТ-теста с небольшими модификациями. Изучение АИ проводилось после внутрибрюшинного введения интактным мышам спленоцитов-доноров, выделенных из разных групп мышей, предварительно иммунизированных убитыми клетками лейкоза Р388. Перед введением в мышью спленоциты-доноры инактивировались нагреванием. Через несколько суток спленоциты выделялись из этих мышей, анализировались методом проточной цитофлуориметрии с использованием маркеров Т-киллеров (антиген CD8) и маркера активации (антиген CD38). Для изучения фенотипа спленоцитов мышью использовалась двойная метка и квадрантный гейт.

**Результаты.** Реципиентные Т-киллеры в селезенке интактных мышей на 6–7-й день после иммунизации

неживыми активированными опухолью спленоцитами-донорами также становятся способными уничтожать клетки лейкоза Р388. С помощью проточной цитофлуориметрии оценивали возможное образование реципиентных Т-киллеров и их активацию в селезенке интактных мышей после введения в них неживых спленоцитов-доноров, активированных лейкозом. Установлено, что в селезенке мышей в этом случае достоверно обнаруживаются Т-киллеры и происходит их активация.

**Выводы.** На введение неживых активированных лейкозом Р388 спленоцитов-доноров организм реципиента так же отвечает, и в селезенке интактных здоровых мышей так же образуется АИ, как это показано при введении живых доноров. Автор предлагает назвать его усвоенным АИ, так как изменяется иммунитет самого хозяина-реципиента и изменяются и генерируются именно реципиентные клетки, в данном случае Т-киллеры. Можно предположить, что в механизме АИ, образующегося после введения живых доноров, определяющую роль играет именно усвоенный АИ.

## Генерация в интактных мышах Т-киллеров, уничтожающих клетки лейкоза Р388

С. В. Хабаров

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва

**Введение.** Среди причин недостаточной профилактики онкологических заболеваний можно назвать сниженную активность естественных киллеров, раннюю опухолевую супрессию иммунитета и позднюю активацию Т-киллеров. При восстановлении противоопухолевого иммунитета обычно применяют иммуномодуляторы, в частности миелопептиды. Ранее было изучено влияние миелопептида МП-2, обладающего противоопухолевым действием, на супрессию цитотоксической активности Т-киллеров, вызванную асцитной жидкостью лейкоза Р-388. Под действием МП-2 и в присутствии асцитной жидкости практически полностью отменяется супрессия активности клеток, другими словами, Т-киллеры становятся резистентными к действию асцитной жидкости лейкоза Р-388. В ходе исследования была обнаружена способность Т-лимфоцитов в селезенке интактных животных приобретать свойства подкожно введенных лимфоцитов-доноров.

**Задачи исследования.** Получить с помощью МП-2 в интактных (здоровых) мышах Т-киллеры, уничтожающие клетки лейкоза Р-388 и изначально устойчивые к супрессирующему действию опухоли.

**Материалы и методы.** Т-лимфоциты (CD3+CD8+CD38-/CD38+) выделялись на колонке с нейлоновой

ватой из селезенок мышей DBA/2, которым предварительно перевивали подкожно Т-лимфоциты, полученные из селезенки мышей с лейкозом Р-388. Цитотоксическую активность лимфоцитов оценивали по выходу [<sup>35</sup>S]-метионина из клеток-мишеней Р-388, насыщенных изотопом. Спленоциты мышей анализировались методом проточной цитофлуориметрии с использованием маркеров Т-киллеров (антиген CD8) и маркера активации (антиген CD38). Для изучения фенотипа спленоцитов мыши использовалась двойная метка и квадрантный гейт.

**Результаты.** **1.** Если вводить intactным мышам лимфоциты, выделенные из селезенки животных с опухолью, то в селезенке intactных мышей Т-лимфоциты превращаются в Т-киллеры и уничтожают клетки лейкоза. **2.** При введении лимфоцитов, чувствительных

к супрессирующему действию лейкоза, из селезенки выделяются киллеры, активность которых тоже угнетается лейкозом. **3.** Наконец, если донорами являются резистентные к действию опухоли лимфоциты, то в селезенке intactных животных также обнаруживаются резистентные лимфоциты.

**Выводы.** В селезенке intactных животных без опухоли с помощью АИ впервые получены Т-киллеры с точно такими же свойствами, как у лимфоцитов-доноров, а именно способные уничтожить клетки лейкоза Р388. Т-киллеры intactных животных приобретают свойства введенных лимфоцитов-доноров, что свидетельствует о высокой специфичности АИ. На примере мышинного лейкоза Р388 обоснована принципиальная возможность усиления профилактики и лечения онкологических заболеваний.

## Список сокращений

АФК	активные формы кислорода
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ВПЧ	вирус папилломы человека
ДВКЛ	диффузная В-крупноклеточная лимфома
ДИ	доверительный интервал
ИП	истинная полицитемия
КРР	колоректальный рак
НМРЛ	немелкоклеточный рак легкого
МИ РМП	мышечно-инвазивный рак мочевого пузыря
ИГХ	иммуногистохимический
ИЛ	интерлейкин
ИФА	иммуноферментный анализ
КТ	компьютерная томография
МРТ	магнитно-резонансная томография
ОЛЛ	острый лимфобластный лейкоз
ОМЛ	острый миелоидный лейкоз
ОР	отношение рисков
ОШ	отношение шансов
ПКР	почечно-клеточный рак
ПСА	простатический специфический антиген
ПЦР	полимеразная цепная реакция
РМЖ	рак молочной железы
РПЖ	рак предстательной железы
РНК	рибонуклеиновая кислота
УЗИ	ультразвуковое исследование
УФ	ультрафиолетовый
ХЛЛ	хронический лимфолейкоз
ХТ	химиотерапия
ЭМП	эпителиально-мезенхимальный переход