

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

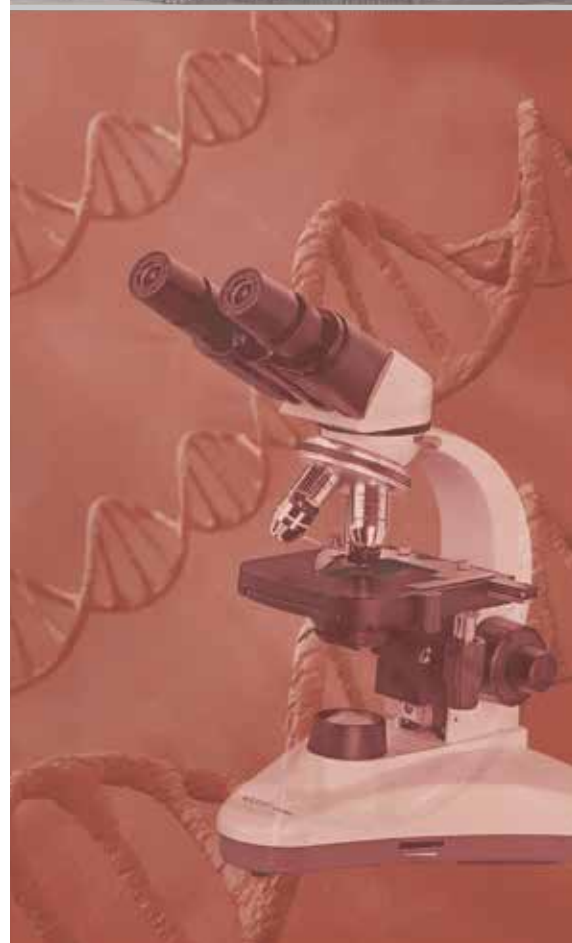
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ
РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ
ЖУРНАЛ



МАТЕРИАЛЫ

*VIII Всероссийской конференции
по молекулярной онкологии*

20–22 декабря 2023 г., Москва



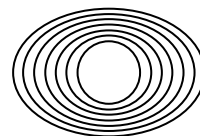
ТОМ 10 № 4 ПРИЛОЖЕНИЕ
2023

Журнал «Успехи молекулярной онкологии» входит в перечень ведущих рецензируемых научных периодических изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией (ВАК) для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук. Журнал включен в Научную электронную библиотеку и Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), имеет импакт-фактор, зарегистрирован в базе данных Scopus, в CrossRef, статьи индексируются с помощью идентификатора цифрового объекта (DOI).

Электронная версия журнала представлена в DOAJ.

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>

Е Ж Е К В А Р Т А Л Ы Й Н А У Ч Н О - П Р А К Т И Ч Е С К И Й Р Е Ц Е Н З И Р У Е М Ы Й Ж У Р Н А Л

Главная задача журнала «Успехи молекулярной онкологии» – публикация современной информации о проведенных фундаментальных и клинико-экспериментальных исследованиях в области молекулярной онкологии.

Цель издания – дать читателям представление об актуальных направлениях современной молекулярной онкологии, ознакомить с наиболее значимыми работами отечественных и зарубежных исследователей в этой области, создать общую площадку, на которой специалисты разных областей, включая онкологов, молекулярных биологов, генетиков, биохимиков, вирусологов, химиотерапевтов, смогут поделиться результатами своих научных исследований.

О С Н О В А Н В 2 0 1 4 Г .

4 ПРИЛОЖЕНИЕ
ТОМ 10
'23

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

Адрес редакции:
115520, Москва,
Каширское шоссе, 24,
стр. 15, НИИ канцерогенеза, 3-й этаж.
Тел./факс: +7 (499) 929-96-19
e-mail: abv@abvpress.ru
www.abvpress.ru

Дизайн Е.В. Степанова
Верстка О.В. Гончарук

*Служба подписки
и распространения*
И.В. Шургаева, +7 (499) 929-96-19,
base@abvpress.ru

*Журнал зарегистрирован
в Федеральной службе по надзору
в сфере связи, информационных
технологий и массовых*

*коммуникаций (ПИ № ФС77-57560
от 08.04.2014)*

**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: 2413-3787 (Online)

Успехи молекулярной онкологии.
2023. Том 10. № 4. Приложение.
1–153.

© ООО «ИД «АБВ-пресс», 2023.

Подписной индекс в каталоге
«Пресса России» – 93562.

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Красильников Михаил Александрович, д.м.н., профессор, директор Научно-исследовательского института канцерогенеза (НИИ канцерогенеза) ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, заведующий отделом экспериментальной биологии опухолей (Москва, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

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)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

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)

Бойчук Сергей Васильевич, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей патологии, декан медико-биологического факультета ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России (Казань, Россия)

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

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)

Животовский Борис Давидович, д.б.н., профессор, лауреат Государственной премии СССР, заведующий лабораторией исследования механизмов апоптоза факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», профессор Каролинского института (Стокгольм, Швеция)

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)

Карамышева Аида Фуадовна, д.б.н., главный научный консультант лаборатории генетики опухолевых клеток отдела молекулярной биологии опухолей НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

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

Кирсанов Кирилл Игоревич, д.б.н., заведующий лабораторией канцерогенных веществ отдела химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, доцент кафедры общей врачебной практики ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (Москва, Россия)

Лазаревич Наталья Леонидовна, д.б.н., профессор, заведующая отделом иммунохимии НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Мазуренко Наталья Николаевна, д.б.н., профессор, главный научный консультант лаборатории 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 «НМИЦ радиологии» Минздрава России (Москва, Россия)

Степанова Евгения Владиславовна, д.м.н., директор Департамента комплексных программ и проектов Минобрнауки 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)

Щербakov Александр Михайлович, заведующий лабораторией онкопротеомики отдела экспериментальной биологии опухолей НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Юришич Владимир, профессор факультета медицинских наук Университета Крагуеваца (Крагуевац, Сербия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Белицкий Геннадий Альтерович, д.м.н., профессор, главный научный консультант лаборатории механизмов химического канцерогенеза отдела химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Гуревич Владимир Эдуардович, д.м.н., профессор, главный научный консультант лаборатории вирусного канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Давыдов Михаил Иванович, д.м.н., профессор, академик РАН, член президиума РАН, заслуженный деятель науки РФ (Москва, Россия)

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

Кубасова Ирина Юрьевна, к.м.н., ученый секретарь 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 им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Лихтенштейн Анатолий Владимирович, д.б.н., главный научный консультант отдела экспериментальной биологии опухолей НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

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

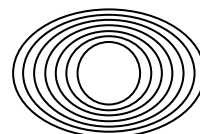
The journal "Advances in Molecular Oncology" is put on the Higher Attestation Commission (HAC) list of leading peer-reviewed scientific periodicals recommended to publish the basic research results of candidate's and doctor's theses.

The journal is included in the Scientific Electronic Library and the Russian Science Citation Index (RSCI) and has an impact factor; it is registered in the Scopus data base, CrossRef, its papers are indexed with the digital object identifier (DOI).

The journal's electronic version is available in the DOAJ.

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

The main objective of the journal "Advances in Molecular Oncology" is publication of current information on basic, clinical and experimental research in molecular oncology.

The publication aim to provide insight into currently important areas of modern molecular oncology; present the most significant studies from Russian and foreign specialists in this field; create a forum for various researchers, including oncologists, molecular biologists, geneticists, biochemists, virologists, chemotherapists to share the results of their scientific research.

FOUNDED IN 2014

4^{APPENDIX}
Vol. 10
'23

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
www.abvpress.ru

Designer E.V. Stepanova
Maker-up O.V. Goncharuk

Subscription & Distribution Service
I.V. Shurgaeva, +7 (499) 929-96-19,
base@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: 2413-3787 (Online)

Uspekhi molekulyarnoy onkologii.
2023. Vol. 10 No. 4. Application.
1–153.

© PH "ABV-Press", 2023
Pressa Rossii catalogue index: 93562.

EDITOR-IN-CHIEF

Krasil'nikov, Mikhail A., DSc, PhD, Professor, Director of the Research Institute of Carcinogenesis, Head of Department of Experimental Biology of Tumors (Moscow, Russia)

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF

Yakubovskaya, Marianna G., MD, PhD, 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)

EDITORIAL BOARD

Berstein, Lev M., MD, PhD, 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., MD, PhD, Professor, Head of the Laboratory of Biochemistry of the Department of Pathomorphology and the Laboratory Diagnostics of the Russian Scientific Center of Roentgenoradiology of the Ministry of Health of Russia, Honored Doctor of the Russian Federation (Moscow, Russia)

Boychuk, Sergey V., MD, PhD, Professor, Head of the Department of General Pathology, Dean of the Faculty of Medicine and Biology, Kazan State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Kazan, Russia)

Gloushankova, Natalia A., DSc, PhD, 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)

Gudkov, Andrey V., DSc, PhD, 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)

Zhivotovskiy, Boris D., DSc, PhD, Professor, Laureate of the State Award of the USSR, Head of the Department of Apoptosis Mechanisms, Faculty of Fundamental Medicine, Lomonosov Moscow State University, Professor of the Karolinska Institute (Stockholm, Sweden)

Imyanitov, Eugeny N., MD, PhD, 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., DSc, PhD, 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)

Karamysheva, Aida F., DSci, PhD, Chief Scientific Consultant of the Laboratory of the Genetics of Tumor Cells of the Department of Molecular Biology of Tumors 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)

Kirsanov, Kirill I., DSc, Head of the Laboratory of Carcinogenic Compounds, 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, Associate Professor of the Department of General Medical Practice of the Peoples' Friendship University of Russia (Moscow, Russia)

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

Lazarevich, Natalia L., DSc, PhD, Professor, Head of the Department of the Immunochemistry 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., DSc, PhD, Professor, Chief Scientific Consultant 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., DSc, PhD, 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)

Shcherbakov, Alexander M., Head of the Laboratory of Oncoproteomics of the Department of Experimental Biology of Tumors 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)

Stepanova, Evgenia V., MD, PhD, Director of the Department of Complex Programs and Projects, Ministry of Science and Higher Education of Russia (Moscow, Russia)

Tchevkina, Elena M., DSc, PhD, 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., DSc, PhD, 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 (Tomsk, Russia)

Juriscic, Vladimir, Professor of the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac (Kragujevac, Serbia)

EDITORIAL COUNCIL

Belitsky, Gennady A., MD, PhD, Professor, Chief Scientific Consultant of the Laboratory of Chemical Carcinogenesis Mechanisms 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)

Gurtsevitch, Vladimir E., MD, PhD, Professor, Chief Scientific Consultant 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 (Moscow, Russia)

Davydov, Mikhail I., MD, PhD, Professor, Academician of RAS, Member of the Presidium of the RAS, Honored Scientist of the Russian Federation (Moscow, Russia)

Zaridze, David G., MD, PhD, Professor, Associate Member of RAS, Head of the Department of Epidemiology and Prevention of Tumors of the N.N. Trapeznikov Research Institute of Clinical Oncology 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)

Kubasova, Irina Yu., PhD, Scientific Secretary of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Kushlinskii, Nikolay E., MD, PhD, Professor, Associate Member of RAS, Head of the Clinical Biochemistry Laboratory, N.N. Trapeznikov 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)

Lichtenstein, Anatoly V., DSc, PhD, Chief Scientific Consultant of the Department of Experimental Tumor Biology 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)

Tjulandin, Sergey A., MD, PhD, Professor, Head of the Department of Clinical Pharmacology and Chemotherapy, Deputy Director for Scientific Research, N.N. Trapeznikov 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)

МАТЕРИАЛЫ

VIII Всероссийской конференции по молекулярной онкологии

20–22 декабря 2023 г., Москва

MATERIALS

of the 8th All-Russian Conference on Molecular Oncology

Moscow, 20–22 December 2023

МАТЕРИАЛЫ VIII ВСЕРОССИЙСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ ПО МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОНКОЛОГИИ

ГЕНОМИКА И ЭПИГЕНОМИКА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ	9
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПРОГРЕССИИ И МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ ОПУХОЛЕЙ	31
МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА ОПУХОЛЕЙ	61
МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ	82

MATERIALS OF THE 8TH ALL-RUSSIAN CONFERENCE ON MOLECULAR ONCOLOGY

GENOMICS AND EPIGENOMICS OF MALIGNANT LESIONS: FUNDAMENTAL AND APPLIED ASPECTS	9
MOLECULAR MECHANISMS OF PROGRESSION AND METASTATIC DISSEMINATION OF TUMORS	31
MOLECULAR DIAGNOSTIC OF TUMORS	61
MOLECULAR BIOLOGICAL APPROACHES TOWARDS ANTI-NEOPLASTIC TREATMENT	82

Список сокращений

АФК – активные формы кислорода	ОАМ – опухолеассоциированные макрофаги
ВКМ – внеклеточный матрикс	ОМЛ – острый миелоидный лейкоз
ВНВ – внеклеточные нановезикулы	ОР – относительный риск
ВПЧ – вирус папилломы человека	ОСК – опухолевые стволовые клетки
ВЭБ – вирус Эпштейна–Барр	ОШ – отношение шансов
ГИСО – гастроинтестинальные стромальные опухоли	ПКР – почечно-клеточный рак
ГЦК – гепатоцеллюлярная карцинома	ПРГШ – плоскоклеточный рак головы и шеи
ДИ – доверительный интервал	ПЦР – полимеразная цепная реакция
ДК – дендритные клетки	ПЦР-РВ – полимеразная цепная реакция в режиме реального времени
ДМГ – 1,2-диметилгидразин	РЖ – рак желудка
днРНК – длинные некодирующие РНК	РЛ – рак легкого
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт	РМЖ – рак молочной железы
ЗНО – злокачественные новообразования	РПЖ – рак предстательной железы
ИГХ – иммуногистохимический	РПК – рак прямой кишки
ИКТ – иммунные контрольные точки	РШМ – рак шейки матки
ИЛ – интерлейкин	РЩЖ – рак щитовидной железы
ИФА – иммуноферментный анализ	РЯ – рак яичника
ИФН – интерферон	скПКР – светлоклеточный почечно-клеточный рак
КМ – костный мозг	ФДТ – фотодинамическая терапия
КРР – колоректальный рак	ФНО- α – фактор некроза опухолей α
ЛТ – лучевая терапия	ХЛЛ – хронический лимфоцитарный лейкоз
ЛУ – лимфатический узел	ХЛТ – химиолучевая терапия
МА – моноклональные антитела	ХТ – химиотерапия
МГБ – мультиформная глиобластома	ЦОК – циркулирующие опухолевые клетки
МЛУ – множественная лекарственная устойчивость	ЭМП – эпителиально-мезенхимальный переход
ММ – множественная миелома	FLIM – fluorescence lifetime imaging (флуоресцентный времяразрешенный имиджинг)
мРНК – матричная РНК	PARP1 – поли(АДФ-рибоза)-полимераза 1
МЭП – мезенхимально-эпителиальный переход	PD-1 – programmed cell death protein 1 (белок программированной клеточной гибели 1)
НАД(Ф)Н – суммарное обозначение восстановленного никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДН) и его фосфорилированной формы (НАДФН)	PD-L1 – programmed cell death ligand 1 (лиганд белка программированной клеточной гибели 1)
НМРЛ – немелкоклеточный рак легкого	P-gr – P-гликопротеин
НХТ – неoadъювантная химиотерапия	

Геномика и эпигеномика злокачественных новообразований: фундаментальные и прикладные аспекты

ПОИСК МАРКЕРОВ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДЛЯ МАЛОИНВАЗИВНОЙ ДИАГНОСТИКИ РАКА ЯИЧНИКОВ

П.М. Абрамов, Р.С. Фасхутдинов, М.Д. Федорова, А.Н. Катаргин, К.И. Жорданиа, С.А. Малютина, Н.Л. Лазаревич, А.Д. Горев, С.В. Винокурова

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, Москва
e-mail: apmlol6@gmail.com

Ключевые слова: метилирование ДНК, малоинвазивная диагностика, рак яичников

Введение. Рак яичников (РЯ) — одно из наиболее распространенных и высоко летальных типов онкологических заболеваний, занимающее 2-е место по смертности в мире от онкогинекологических заболеваний. Основной причиной низкой эффективности терапии РЯ является поздняя диагностика, что объясняется прежде всего бессимптомным течением заболевания на ранних стадиях и недостаточной эффективностью диагностических маркеров. В последнее время аспираты из полости матки рассматриваются как источник перспективных биомаркеров, в том числе опухолеспецифических эпигенетических маркеров для диагностики РЯ.

Цель исследования — поиск маркеров метилирования для малоинвазивной диагностики РЯ на основе анализа клеток из аспиратов полости матки.

Материалы и методы. Поиск дифференциально метилированных геномных локусов проводили путем анализа открытых данных метиломных исследований образцов неопухолевой ткани и серозной аденокарциномы яичников из выборки TCGA-OV, GSE146552, GSE155760 и GSE81224, полученных с использованием платформ Infinium HumanMethylation450 (Illumina, США). Анализ кандидатных маркерных локусов на выборке клинических образцов тканей РЯ ($n = 107$) и неопухолевой ткани яичников ($n = 18$) проводили с использованием метода бисульфитного пиросеквенирования. Для анализа метилирования кандидатных маркерных сайтов в клетках из аспиратов полости матки пациентов с РЯ ($n = 62$) и женщин без клинически значимых изменений в яичниках ($n = 35$) использо-

вали оптимизированный метод метилспецифической полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Результаты. Среди 1705 геномных локусов с повышенным уровнем метилирования в РЯ по сравнению с неопухолевой тканью яичников для дальнейших исследований были выбраны две последовательности с достоверными различиями в уровне метилирования в CpG-островках регуляторной области генов *TRH* (Thyrotrophin-Releasing Hormone) и *OTX1* (Orthodenticle Homeobox 1). Анализ уровня метилирования геномных локусов в генах *TRH* и *OTX1* в тканях РЯ и неопухолевой ткани яичников показал высокий диагностический потенциал этих маркерных последовательностей: *OTX1* (AUC — 0,96, чувствительность — 0,93, специфичность — 0,77) и *TRH* (AUC — 0,95, чувствительность — 0,93, специфичность — 0,72). При анализе клеток из аспиратов полости матки согласно показателям ROC-AUC, только *TRH* (AUC — 0,71) определял наличие опухоли лучше, чем используемый в клинической практике уровень сывороточного маркера РЯ — CA125 (AUC — 0,68). Комбинация маркера метилирования *TRH* с уровнем CA125 позволяет увеличить значения ROC-AUC до 0,82. С использованием бутстрэп-анализа было показано, что среднее значение ROC-AUC для панели из 2 маркеров (*TRH* и CA125) составило 0,89 (доверительный интервал (ДИ) 0,77–0,98) и среднее значение чувствительности: 0,89 (ДИ 0,77–1,00).

Заключение. В данной работе продемонстрирован высокий диагностический потенциал метилирования маркерного локуса в гене *TRH* для диагностики РЯ. Впервые представлен новый подход к малоинвазивной диагностике РЯ на основе анализа маркеров метилирования в клетках из аспиратов полости матки.

ЭКСПРЕССИЯ *TSEEN*-ГЕНОВ ЧЕЛОВЕКА В ОПУХОЛЯХ И ВИСЦЕРАЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ПРИ ОЖИРЕНИИ – СВИДЕТЕЛЬСТВО В ПОЛЬЗУ ОПУХОЛЕПОДОБНОЙ ПРИРОДЫ ОЖИРЕНИЯ

Е.Б. Акулова¹, Ю.К. Карнаухова¹, Л.Л. Круковская¹,
Е.А. Матюнина¹, С.В. Веревошкин¹, Н.А. Петрова¹,
Г.Т. Бойкова¹, Р.В. Гамазов¹, В.Ю. Макеев²,
В.С. Заборовский³, Е.В. Шмидт⁴, М.Е. Васильева⁴,
А.А. Богатиков⁴, В.А. Кашенко⁴, А.В. Павловский⁵,
А.А. Стаценко⁵, В.Е. Моисеенко⁵, А.П. Козлов¹⁻³

¹ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека»
ФМБА России, г. п. Кузьмоловский;

²ФГБУН «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова»
РАН, Москва;

³ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический
университет Петра Великого», Санкт-Петербург;

⁴ФГБУ «Северо-Западный окружной научно-клинический
центр им. Л.Г. Соколова» ФМБА России, Санкт-Петербург;

⁵ФГБУ «Российский научный центр радиологии
и хирургических технологий им. акад. А.М. Гранова»
Минздрава России, Санкт-Петербург
e-mail: ekaterina.akul@gmail.com

Ключевые слова: *TSEEN*-гены, опухоли желудочно-кишечного тракта, ожирение, экспрессия генов, опухолеподобная природа ожирения

Введение. Ранее нами был описан новый класс генов, экспрессирующихся в широком круге опухолей и не экспрессирующихся в нормальных тканях – *TSEEN*-гены (tumor specifically expressed, evolutionarily new genes). Опухолеспецифичность экспрессии данных генов была подтверждена на панелях кДНК из нормальных и опухолевых тканей. Согласно представлениям, развиваемым в нашей лаборатории, жировой орган млекопитающих имеет много общих черт с опухолями, а ожирение можно рассматривать как опухолеподобный процесс. Поскольку на сегодняшний день ожирение приобрело пандемический характер, новые фундаментальные данные могут кардинально повлиять на технологии, используемые в онкологии и при лечении ожирения.

Цель исследования – проверить, экспрессируются ли *TSEEN*-гены человека в образцах тканей различных опухолей желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и в жировых тканях при ожирении, полученных после хирургического вмешательства.

Материалы и методы. В работе были использованы образцы тканей опухолей ЖКТ (опухоли толстого кишечника, желудка, поджелудочной железы) от разных пациентов и образцы висцеральной жировой ткани, полученные в ходе бариатрических операций из брюшной полости пациентов с ожирением. Каждый пациент подписал информированное согласие на участие в исследовании. Выделение тотальной РНК проводили с помощью TRI Reagent® solution (Invitrogen). Выделенную РНК обрабатывали ДНКазой I, свободной

от РНКазы. Синтез кДНК проводили с помощью набора Revert Aid® First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas). Для анализа с помощью ПЦР использовали праймеры, специфичные к *TSEEN*-генам человека, LINC02932, ELFN1-AS1 и OTP-AS1.

Результаты. Было показано, что изученные *TSEEN*-гены человека экспрессируются во всех образцах опухолей ЖКТ и в висцеральной жировой ткани при ожирении. Экспериментальные результаты были подтверждены *in silico* с помощью анализа транскриптомов нормальных жировых тканей и жировых тканей при ожирении.

Заключение. Подтверждена экспрессия *TSEEN*-генов в 24 типах опухолей, в том числе в опухолях ЖКТ, включая рак поджелудочной железы, и отсутствие их экспрессии в нормальных тканях. Это подтверждает возможность разработки новой онкологической реактивности на основе *TSEEN*-генов. Показано, что *TSEEN*-гены человека экспрессируются в висцеральной жировой ткани при ожирении. Это является еще одним подтверждением опухолеподобной природы ожирения, понимание чего открывает новые перспективы для борьбы с ожирением и онкологическими заболеваниями.

РОЛЬ УНАСЛЕДОВАННЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ И РЕПАРАЦИИ ДНК В ФОРМИРОВАНИИ РИСКА РАКА ЛЕГКОГО У КУРЯЩИХ РАБОЧИХ УГОЛЬНЫХ ШАХТ КУЗБАССА

М.Л. Баканова, Я.А. Савченко, В.И. Минина

ФГБНУ «ФИЦ угля и углехимии СО РАН», Кемерово;

ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет»,
Кемерово

e-mail: mari-bakano@ya.ru

Ключевые слова: рак легкого, ксенобиотики, ген

Цель исследования – анализ вариантов генов репарации ДНК (*APEX1* rs1130409, *hOGG1* rs1052133, *NBS1* rs1805794, *XPB* rs13181), ферментов биотрансформации ксенобиотиков (*CYP1A2* rs762551, *GSTP1* rs1695, *EPHX1* rs1051740) в связи с риском формирования рака легкого (РЛ) у курящих рабочих угольных шахт Кузбасса.

Материалы и методы. Обследовано 182 больных РЛ и 148 здоровых рабочих угольных шахт Кузбасса, которые составили группу сравнения. Испытуемые были подобраны с учетом пола, возраста и статуса курения, и у каждого было взято согласие на исследование. Варианты генов *hOGG1* (rs1052133), *APEX1* (rs1130409), *XPB* (rs13181), *NBS1* (rs1805794), *EPHX1* (rs1051740) изучали методом аллель-специфической ПЦР (НПФ «Литех», Москва), а варианты генов *CYP1A2* (rs762551), *GSTP1* (rs1695) – методом ПЦР в режиме реального времени (ПРЦ-РВ) (ООО «СибДНК», Новосибирск).

Статистическая обработка материала проводилась с помощью SNPstats (<http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats>), Statistica 10.0 (StatSoft, Inc., США).

Результаты. Выявлены ассоциации риска развития РЛ с генотипом TG + GG гена *XPB* (отношение шансов (ОШ) 2,58; 95 % доверительный интервал (ДИ) 1,62–4,10; $p = 0,0001$ для доминантной модели), с генотипом TC + CC гена *ERH1* (ОШ 0,46; 95 % ДИ 0,30–0,73; $p = 0,0001$ для доминантной модели). В обследованных группах частоты генотипов и аллелей исследованных генов соответствовали равновесию Харди–Вайнберга.

Заключение. Полученные данные указывают на возможную роль вариантов генов *ERH1* rs1051740, *XPB* rs13181 в формировании риска РЛ у курящих шахтеров Кузбасса.

Работа выполнена при поддержке гранта в форме субсидий на создание научных лабораторий под руководством молодых ученых (постановление Правительства от 19.09.22 № 632).

РОЛЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ МИКРОРНК В ПАТОГЕНЕЗЕ МЕТАСТАТИЧЕСКОГО ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНОГО РАКА

А.М. Бурденный¹, И.В. Пронина¹, Н.А. Иванова¹,
А.Д. Селезнева¹, С.С. Лукина¹, Е.А. Филиппова¹,
Н.В. Апанович², Т.П. Казубская³, А.А. Алимов²,
В.И. Логинов^{1,2}, Э.А. Брага^{1,2}

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

²ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова», Москва;

³ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва
e-mail: burdennyu@gmail.com

Ключевые слова: патогенез, светлоклеточный почечно-клеточный рак, метастазы

Введение. Светлоклеточный почечно-клеточный рак (скПКР) представляет группу гетерогенных опухолей и характеризуется отсутствием маркеров ранней диагностики, а также высокой летальностью (до 90 %). Большинство случаев скПКР диагностируется случайно (до 30 % — на поздних стадиях, а еще до 30 % имеют метастазы). Гены семейства микроРНК 124 являются супрессорами в опухолях различной локализации, а регулятором их экспрессии предположительно является метилирование. Однако результаты противоречивы.

Цель исследования — изучение роли метилирования 3 генов микроРНК семейства 124, анализ ассоциации этих генов с прогрессией и метастазированием при скПКР.

Материалы и методы. Образцы опухолей скПКР собраны и клинически охарактеризованы в НИИ клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». Анализ уровней метилирования

и экспрессии проводили с применением количественной метилспецифической ПЦР и количественной ПЦР-РВ. Для оценки значимости различий между исследуемыми группами применяли непараметрический критерий Манна–Уитни для независимых выборок.

Результаты. Показано статистически значимое ($p < 0,01$) повышение уровня метилирования 3 генов микроРНК семейства 124 (*MIR124A1*, *MIR124A2*, *MIR124A3*) в образцах ДНК опухоли относительно парных образцов гистологически неизменной ткани. При этом для *MIR-124a3* показано значимое снижение экспрессии ($p < 0,01$). При анализе скПКР с учетом патоморфологических особенностей значимое увеличение уровня метилирования показано для гена *MIR124A2* в образцах с увеличением размера опухоли и наличием метастазов в регионарных лимфатических узлах (ЛУ) и/или отдаленных органах ($p < 0,01$ и $p = 0,011$ соответственно).

Заключение. Таким образом, гены семейства 124 действительно вовлечены в процессы развития скПКР, и изменение их уровня метилирования и/или экспрессии при подтверждении дополнительными методами может быть использовано при диагностике и прогнозе этого типа рака.

Работа выполнена при поддержке в рамках ГЗ № FGFU-2022-0007 Минобрнауки России учреждению ФГБНУ «НИИОПП».

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ VCL6 В ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ ЛЕГКИХ КУРЯЩИХ И НЕКУРЯЩИХ ПАЦИЕНТОВ

И.С. Валембахов, Д.Д. Захарова, В.В. Конончук,
Т.С. Калинина

ФГБНУ «ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск
e-mail: valembakhov@mail.ru

Ключевые слова: злокачественные новообразования, курящий пациент, рак легкого

Введение. Накапливается все больше данных о том, что репрессор транскрипции VCL6 играет онкогенную роль в некоторых злокачественных новообразованиях (ЗНО) человека, в том числе при РЛ. Известно, что одним из регуляторов экспрессии VCL6 является арил-гидрокарбонный рецептор (AhR). Лигандом для AhR служит бензпирен (БП) — один из основных канцерогенов табачного дыма, связываемый с развитием РЛ. Таким образом, можно ожидать, что экспрессия VCL6 в опухолях легкого может различаться у пациентов в зависимости от статуса курения и, возможно, играть разную роль в канцерогенезе у курящих и некурящих пациентов.

Цель исследования — проанализировать зависимость уровня экспрессии VCL6 от статуса курения

и клинико-патологических характеристик опухолей пациентов с РЛ.

Материалы и методы. С помощью ПЦР-РВ мы проанализировали экспрессию VCL6 в образцах РЛ ($n = 86$). Образцы ткани были собраны в Новосибирском областном онкологическом диспансере. Были собраны образцы плоскоклеточного рака легких (ПКРЛ, $n = 32$) курящих пациентов и образцы аденокарциномы легкого (АКЛ) курящих ($n = 33$) и некурящих ($n = 21$) пациентов.

Результаты. Выявлено, что экспрессия VCL6 зависит от возраста пациентов: уровень мРНК гена VCL6 ниже у пациентов в возрасте 65 лет и старше ($p = 0,042$). Кроме этого, у пациентов с ПКРЛ экспрессия VCL6 зависела от размера опухоли и была значительно ниже в опухолях >5 см ($p = 0,007$). Аналогичная тенденция наблюдалась для курящих пациентов с АКЛ. Однако у некурящих пациентов наблюдалась тенденция к увеличению экспрессии VCL6 в опухолях >5 см. Возможно, дальнейшее увеличение выборки позволит подтвердить наблюдаемые тенденции.

Заключение. Таким образом обнаружено, что экспрессия VCL6 в злокачественных опухолях легких зависит от возраста пациентов и размера опухоли. При этом связь уровня экспрессии VCL6 с размером опухоли имеет различный характер у пациентов с разным статусом курения.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 22-15-00065).

ПРОФИЛЬ ЭКСПРЕССИИ МИКРОРНК ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЛИМФОЦИТАРНОМ ЛЕЙКОЗЕ

Ю.А. Веряскина¹, С.Е. Титов^{1,2}, И.Б. Ковынев³, С.С. Федорова³, Я.Ю. Шебуная³, О.В. Березина³, Т.И. Поспелова³, И.Ф. Жимулев¹

¹ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН», Новосибирск;

²АО «Вектор-Бест», Новосибирск;

³ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск
e-mail: microrna@inbox.ru

Ключевые слова: хронический лимфоцитарный лейкоз, микроРНК

Введение. Хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) — наиболее распространенная форма лейкоза у взрослых с весьма варибельным клиническим течением. Расширение представлений о молекулярных путях, лежащих в основе патогенеза этого заболевания, способствует поиску биомаркеров для ранней диагностики ХЛЛ, оценки прогноза развития заболевания и эффективности терапии. Аберрантная экспрессия микроРНК (миРНК) — один из эпигенетических механизмов возникновения и опухолевой прогрессии

злокачественных лимфоидных неоплазий в целом и ХЛЛ в частности.

Цель исследования — анализ уникальных профилей экспрессии миРНК при ХЛЛ в костном мозге (КМ) и опухолевых ЛУ.

Материалы и методы. В исследование включены гистологические препараты биопсированных опухолевых ЛУ до начала лечения, прошедших обработку с использованием классических методов фиксации в формалине ($n = 20$) и препараты-мазки стерильного пунктата или аспирата КМ, полученные при трепанобиопсии подвздошной кости ($n = 33$). Контрольные группы составили пациенты с реактивной лимфаденопатией ($n = 40$) и неопухолевыми патологиями крови ($n = 43$). Выделение нуклеиновых кислот из клинических образцов проводилось с использованием набора реагентов «Реал Бест экстракция 100» («АО Вектор-Бест», Россия). Уровни экспрессии миРНК измеряли с помощью ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в реальном времени.

Результаты. Мы наблюдаем статистически значимое снижение уровней экспрессии миРНК-148b и миРНК-128 и статистически значимое увеличение уровней экспрессии миРНК-20a, -26b и -23b, при этом уровень экспрессии миРНК-150 повышен почти в 40 раз в образцах КМ ХЛЛ в сравнении с неопухолевыми патологиями крови ($p < 0,05$). Сравнительный анализ уровней экспрессии миРНК в материале ЛУ показал статистически значимое снижение уровней экспрессии миРНК-148b, -18a, -183, -20a, -23b, -26b, -34a, -451a, -9 в ЛУ ХЛЛ по отношению к реактивной лимфаденопатии ($p < 0,05$). Наиболее значительное снижение уровней экспрессии более чем в 3 раза в образцах ЛУ ХЛЛ наблюдается для миРНК-18a, -451a и -9 ($p < 0,05$).

Заключение. Мы показали, что профиль экспрессии миРНК не совпадает в КМ и ЛУ ХЛЛ. Это может быть связано с влиянием микроокружения опухолевого субстрата. Признано, что такое взаимодействие играет важную роль в поддержании пролиферации опухолевых клеток, инвазии, метастазировании и даже в резистентности к лечению. Результаты, полученные в данном исследовании, вносят вклад в понимание патогенеза ХЛЛ.

ВЫТЭСНЕНИЕ ЛИНКЕРНЫХ ГИСТОНОВ ИЗ ХРОМАТИНА ВТОРИЧНЫМИ МЕТАБОЛИТАМИ РАСТЕНИЙ

О.А. Власова¹, И.А. Антонова¹, Р.Г. Зенков¹,
Д.С. Набережнов¹, Г.А. Белицкий¹, А.А. Борунова¹,
Т.Н. Заботина¹, Д. Гарсиа-Гомес², А. Сафина³, К. Гурова³,
К.И. Кирсанов¹, А. Джордан², М.Г. Якубовская¹

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

²Институт молекулярной биологии Барселоны, Барселона,
Испания;

³Онкологический центр Розвелла Парка, Баффало, США
e-mail: mgyakubovskaya@mail.ru

Ключевые слова: ДНК-зависимый белок, нуклеосомы, метаболиты растений

Введение. Многие вторичные метаболиты растений, обладающие антиканцерогенной активностью, являются ДНК-тропными соединениями. Их взаимодействие с ДНК может влиять на функционирование ДНК-зависимых белков, включая гистоны, что определяет структуру хроматина и регуляцию функционирования генома. Однако данных о влиянии вторичных метаболитов растений на структуру хроматина до настоящего времени опубликовано не было.

Цель исследования — анализ стабильности нуклеосом и локализации линкерных гистонов H1.2, H1.4 и H1.5 в клетках HeLa после обработки 15 вторичными метаболитами растений, которые являются ДНК-связывающими и обладают антиканцерогенной активностью.

Результаты. Ни один из вторичных метаболитов растений не вызывал дестабилизацию нуклеосом, тогда как большинство из них продемонстрировали значительное влияние на локализацию линкерных гистонов в ядрах клеток. В частности, обработка клеток H1 вторичными метаболитами растений в нетоксичных концентрациях вызывала значительную транслокацию линкерного гистона H1.5 в ядрышки; большинство вторичных метаболитов растений вызывали деплецию из фракции хроматина линкерных гистонов H1.2 и H1.4, которые контролируют уровень экспрессии диспергированных повторов LINE1 и SINE. При этом уровень содержания этих линкерных гистонов в общем пуле белков клетки и уровень их экспрессии значительно не изменялись. Куркумин, ресвератрол, берберин, нарингенин и кверцетин вызывали перераспределение всех 3 вариантов изученных линкерных гистонов. Мы продемонстрировали, что вторичные метаболиты растений, вызывающие наиболее значительное перераспределение линкерного гистона H1.5 (берберин, куркумин и нарингенин), влияют на репликативный синтез ДНК и изменяют доли клеток, экспрессирующих и неэкспрессирующих циклин В. Ремоделер хроматина CBLO137, использованный в нашем исследовании в качестве положительного контроля, после

1-часовой обработки клеток HeLa вызывал интенсивное перераспределение линкерных гистонов и ингибирование синтеза ДНК на 97%. При обработке берберинем клеток HeLa транслокация линкерного гистона H1.5 в ядрышки наблюдается на всех фазах клеточного цикла.

Заключение. Впервые продемонстрировано влияние вторичных метаболитов растений на локализацию в ядрах клеток линкерных гистонов, контролирующей уровень экспрессии диспергированных повторяющихся последовательностей, что открывает новое направление изучения влияния на структуру клеточного хроматина и функционирование генома вторичных метаболитов растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 23-25-00276).

РОЛЬ N-КОНЦЕВЫХ ДОМЕНОВ ГИСТОНОВ ПРИ ТРАНСКРИПЦИИ НУКЛЕОСОМ С ОДНОНИТЕВЫМИ РАЗРЫВАМИ ДНК

Н.С. Герасимова^{1,2}, Н.А. Пестов³, В.М. Студитский^{1,4}

¹ФГБУН «Институт биологии гена РАН», Москва;

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

³Медицинская школа университета Ратгерса, Нью-Джерси, США;

⁴Центр исследований рака Фокс Чейз, Филадельфия, США
e-mail: shordome@gmail.com

Ключевые слова: одностранные разрывы ДНК, транскрипция нуклеосом

Введение. В результате различных процессов клеточного метаболизма и под воздействием генотоксических соединений в ДНК могут возникать одностранные разрывы. Накапливаясь, они способствуют возникновению двустранных разрывов и повышают нестабильность генома. Такие повреждения детектируются и устраняются белками систем репарации, однако у эукариот ДНК упакована в хроматин — комплекс ДНК и белков, минимальной единицей которого является нуклеосома. Известно, что нуклеосомы затрудняют узнавание повреждений в ДНК, поэтому процесс репарации одностранных разрывов в хроматине является предметом дальнейших исследований. Например, детекция разрывов может происходить за счет остановки процессирующих ферментов на обрыве матрицы. Ранее нами было показано, что одностранные разрывы нематричной цепи ДНК при ее укладке в нуклеосому также могут вызывать остановку РНК-полимеразы 2, что, в свою очередь, может служить сигналом для репарации.

Цель исследования — изучить, оказывают ли N-концевые домены гистонов (так называемые хвосты гистонов) влияние на узнавание одностранных разрывов ДНК при транскрипции нуклеосом.

Материалы и методы. Исследование проводилось методом транскрипции *in vitro* одиночных нуклеосом с расположенными в определенных положениях нематричной цепи ДНК одонитевыми разрывами, собранных на синтетических фрагментах ДНК с использованием белков-гистонов с сохраненными или удаленными N-концевыми доменами.

Результаты. Было обнаружено, что остановка РНК-полимеразы более эффективно происходит в присутствии N-концевых доменов гистонов, что особенно выражено при наличии одонитевых разрывов в ДНК.

Закключение. Согласно данным, полученным ранее, остановка РНК-полимеразы при транскрипции нуклеосом с одонитевыми разрывами нематричной цепи ДНК может быть связана с формированием внутри-нуклеосомных петель ДНК – интермедиатов, в которых ДНК взаимодействует с гистоновым октамером впереди и позади фермента. Полученные в ходе исследования данные свидетельствуют в пользу участия N-концов гистонов в формировании таких интермедиатов и в возможном узнавании скрытых в хроматине одонитевых разрывов ДНК.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 21-64-00001).

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ В КЛЕТКАХ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ГОЛОВЫ И ШЕИ

Э.Д. Джуманиязова, П.А. Вишнякова, Т.Х. Фатхудинов
НИИ молекулярной и клеточной медицины ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва
e-mail: enar2017@yandex.ru

Ключевые слова: плоскоклеточный рак головы и шеи, гены

Введение. Плоскоклеточный рак головы и шеи входит в десятку наиболее распространенных ЗНО и характеризуется агрессивным потенциалом. Высокая частота рецидивов, гетерогенность ответов на тот или иной вид лечения обуславливают необходимость поиска новых мишеней для создания таргетных агентов, а также биомаркеров-предикторов прогноза течения заболевания и ответа на различные противоопухолевые стратегии.

Цель исследования – оценить уровень экспрессии генов ткани плоскоклеточного рака головы и шеи и перитуморальной области.

Материалы и методы. Биопсийный материал опухолевой ткани был получен от 24 пациентов. Обработка биоматериала выполнялась в асептических условиях с использованием стерильных материалов. Изолирование клеток осуществляли методом энзиматической дезагрегации. Тотальную РНК выделяли из клеток набором RNeasy Mini Kit (Qiagen) с последующей очисткой и концентрацией набором RNA Clean & Concentrator (Zymo Research). cDNA получали набором

MMLV Kit («Евроген»). Оценку экспрессии генов проводили с использованием метода ПЦР-РВ. В ходе работы проведена оценка экспрессии широкой панели генов, вовлеченных в различные пути внутриклеточного сигналинга, работу цитоскелета и транскрипционных факторов, рецепторные каскады: *CK17, KRT13, KRT4, Vimentin, E-cadgerin, PTEN, Trp63, Trp53, TIMP1, TIMP2, CD44, YAP, ALDH1A1, EREG, NOTCH, HIF1a, CDKN2A1, AURKA, WEE1, PIK3CA, IL-6, EGFR, EGF, ARH2, UBF2A, UTP14A, APIP, SLC26A6, UBE2Z, ZNF395, EPS8L1, PITX1, FCGBP*. Статистическую обработку данных проводили в программе GraphPad Prism 8 (Software Graph).

Результаты. При оценке полученных результатов было отмечено достоверное увеличение экспрессии в опухолевой ткани следующих генов: *CK17* (структурный белок, маркер эпителиальных стволовых клеток), *IL-6* (провоспалительный цитокин), *TIMP1* (тканевый ингибитор матриксной металлопротеиназы 1), *p63* (ген-супрессор опухолевого роста), *EGFR* (эпидермальный фактор роста), *CD44* (клеточный гликопротеин, ответственный за межклеточные взаимодействия); в перитуморальной области превалировала экспрессия генов: *CK13, CK4* (структурные белки), *PITX1* (транскрипционный регулятор), *CDKN2A1* (ген-супрессор опухолевого роста), *ALDH1A1* (маркер раковых стволовых клеток), *EPS8L1* (ген-регулятор эпидермального фактора роста). Важно отметить наличие разницы экспрессии генов в зависимости от наличия у пациента привычки курения. Так, например, экспрессия *NOTCH1* (протоонкоген), *E-кадгерин* (эпителиальный белок адгезии), *SLC26A6* (белок, ответственный за обмен анионов) была повышена у некурящих пациентов.

Закключение. Дополнение молекулярно-генетического «портрета» плоскоклеточного рака головы и шеи послужит предпосылкой к возможности осуществления персонализированного подхода к лечению пациентов и использованию генетических сигнатур в качестве предикторов прогноза заболевания.

АНАЛИЗ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН В ОНКОБЕЛКАХ E6 И E7 ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА 16-го ТИПА

Е.Е. Зеленова^{1,2}, А.А. Карлсен^{1,3}, Д.В. Авдошина⁴,
К.К. Кюрегян^{1,3}, М.Г. Беликова^{1,4,5}, И.Д. Троценко^{1,6}

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва;

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

³ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва;

⁴ФГБНУ «ФИЦ исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН», Москва;

⁵ФГБУ «НЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи», Москва;

⁶РОО «Московское онкологическое общество», Москва
e-mail: zelenovayeye@gmail.com

Ключевые слова: вирус папилломы человека 16-го типа, E6, E7, филогенетический анализ, ковариационный анализ, В- и Т-клеточные эпитопы

Введение. Вирусы папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска являются ведущими этиологическими агентами в развитии рака шейки матки, а также других ЗНО орофарингеальной и аногенитальной областей. Онкобелки E6 и E7 играют ключевую роль в канцерогенезе при ВПЧ-инфекции. Данные об изменчивости E6 и E7 ограничены, а факторы, влияющие на их изменчивость, малоизучены.

Цель исследования – проанализировать вариабельность известных к настоящему времени последовательностей онкобелков E6 и E7 ВПЧ 16-го типа (ВПЧ16) и охарактеризовать направление их эволюции в основных географических регионах мира.

Материалы и методы. Из базы данных GenBank NCBI 06.10.2022 г. были выгружены все последовательности, кодирующие онкобелки E6 и E7 ВПЧ16. Последовательность должна была включать хотя бы одну из двух интересующих нас рамок считывания целиком с известной датой сбора и страной происхождения образцов – 3651 последовательность, кодирующая белок E6, и 4578 последовательностей, кодирующих E7. После выравнивания нуклеотидные последовательности были переведены в последовательность аминокислот и проанализированы с применением программ MEGA11, RStudio, jModelTest 2.1.20, BEAST v1.10.4, Fastcov и BioStrings.

Результаты. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей, кодирующих онкобелки E6 ВПЧ16, установил их региональную кластеризацию, совпадающую с разделением образцов по набору наиболее распространенных аминокислотных замен (АК-замен). Выявлены случаи реверсии отдельных АК-замен при изменении региона распространения вируса. Аналогичный анализ для онкобелка E7 был невыполним ввиду высокой гомологичности последовательностей. Ковариационный анализ совокупной выборки показал отсутствие взаимосвязи между АК-заменами внутри белка E6, E7, а также между E6 и E7. Показана колокализация АК-замен с кластерами известных В- и Т-клеточных эпитопов.

Закключение. АК-замены в онкобелках E6/E7 ВПЧ16 расположены в участках локализации известных В- и Т-клеточных эпитопов и относительно мало затрагивают структурно-функциональные домены E6 и E7. Обнаруженные различия в АК-заменах в E6/E7 ВПЧ16 в различных регионах и этнических группах могут быть связаны с распределением аллелей главного комплекса гистосовместимости, что отражается в региональных различиях в иммунном давлении и, соответственно, в разных путях ухода от иммунного ответа.

ИЗМЕНЕНИЕ СТАТУСА ИНФИЦИРОВАНИЯ ОПУХОЛИ ПОСЛЕ ХИМИОЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ ВПЧ-ПОЗИТИВНОГО АНАЛЬНОГО РАКА

Т.А. Зыкова, М.А. Гусарева, Е.А. Шевякова,
Е.М. Франциянц, Е.А. Толмачева, М.С. Зинькович,
Н.Г. Кошелева, А.А. Солнцева, А.Д. Гусарев

ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону
e-mail: tatiana2904@yandex.ru

Ключевые слова: анальный рак, прогноз, вирус папилломы человека

Введение. Анальный рак (АР) относится к числу онкологических заболеваний с доказанным этиологическим агентом – вирусом папилломы человека (ВПЧ).

Цель исследования – изучить воздействие химиолучевой терапии (ХЛТ) на процесс элиминации ВПЧ-положительных опухолевых клеток из опухоли.

Материалы и методы. Обследованы 28 больных с плоскоклеточным АР, в том числе 26 женщин ($57,1 \pm 8,8$ года) и 2 мужчин ($55 \pm 9,5$ года). Все пациенты получали радикальную ХЛТ, прошли лечение без перерывов с умеренными явлениями лучевых реакций. Противовирусную терапию не проводили. Мазки с поверхности опухоли отбирали до проведения ХЛТ, в день ее окончания, через 3, 6, 9 и 12 мес после ХЛТ. Для определения ДНК ВПЧ использовали набор реагентов АмплиСенс® ВПЧ ВКР генотип-титр-FL.

Результаты. Непосредственно перед началом ХЛТ все больные были ВПЧ-положительными. В виде моноинфекции вирус обнаружен у 73,5 %, микст-инфекции – у 26,5 % больных. Вирусная нагрузка находилась в диапазоне от 1,4 до 7,3 lg копий ДНК ВПЧ/ 10^5 клеток, медиана составила 5,41 lg копий ДНК ВПЧ/ 10^5 клеток. В 83,9 % образцов вирусная нагрузка превышала порог клинической значимости (3 lg копий ДНК ВПЧ/ 10^5 клеток). Были обнаружены: ВПЧ 16 в виде моно- и/или микст-инфекции – у 82,4 % больных, ВПЧ 18 – у 17,6 %, ВПЧ 45 и 56 – у 5,9 % каждый, ВПЧ 31, 39, 52, 59 и 68 – у 2,9 % больных каждый. Сразу после окончания ХЛТ ВПЧ-положительными оставались 60,0 % больных, через 3 мес – 40,9 %, 6 мес – 31,3 %, 9 мес – 25,0 %, 12 мес – 25,0 % больных. Быстрый вирусологический ответ (исчезновение или снижение вирусной нагрузки более чем на 2 lg копий по завершении ХЛТ) наблюдали у 46,4 % больных АР, медленный вирусологический ответ (полное исчезновение ВПЧ через 3 или 6 мес после ХЛТ) – у 14,3 %, отсутствие вирусологического ответа – у 21,4 %, вирусологический прорыв (повторное появление ВПЧ) – у 17,9 % больных. Полный клинический ответ, оцениваемый в 6 мес, был достигнут у 71,4 % больных. Только 15 % из них оставались ВПЧ-положительными. Именно у этих больных наблюдали вирусологический прорыв, а в дальнейшем – рецидив опухоли.

Закключение. Существующие протоколы ХЛТ не позволяют полностью элиминировать ВПЧ-положительные

опухолевые клетки. Стойкий вирусологический ответ может быть предиктором эффективности ХЛТ АР. Для подтверждения потенциальной роли ДНК ВПЧ в ткани остаточной опухоли в качестве биомаркера раннего выявления прогрессирования заболевания при АР необходимо дальнейшее накопление данных.

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА RS429358 ГЕНА АПОЛИПОПРОТЕИНА E В РАЗВИТИИ РАКА ТЕЛА МАТКИ И ЯИЧНИКОВ

Т.И. Иванова, В.А. Хорохорина, Б.Э. Ткаченко,
Л.С. Мкртчян, Н.И. Сыченкова, Л.И. Крикунова,
И.А. Замулаева

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии»
Минздрава России, Обнинск
e-mail: stasia14@yandex.ru

Ключевые слова: полиморфизм апополипротеина E, рак тела матки, рак яичников

Введение. Гены, кодирующие белки с антиоксидантными свойствами, могут влиять на предрасположенность к развитию рака тела матки (РТМ) и РЯ. Два однонуклеотидных полиморфизма гена апополипротеина E (rs429358, rs7412) определяют аллели ε2, ε3, ε4, из которых наиболее распространенным является ε3. В отличие от ε3, в ε4 референсный тимин (Т) заменен на цитозин (С) (rs429358), что ведет к замене цистеина на аргинин в положении 130 аминокислотной последовательности. Известно, что аллель ε4 ассоциирован с болезнью Альцгеймера. Также было показано, что вклад аллеля ε4 в развитие ЗНО во многом определяется полом, возрастом, конкретным типом опухоли. Определение аллелей, ассоциированных с канцерогенезом, актуально не только для понимания механизмов последнего, но и для формирования групп риска, что является основой для персонализированной медицины.

Цель исследования – оценить вклад минорного аллеля (rs429358) апополипротеина E в развитие РТМ и РЯ.

Материалы и методы. Материалом для исследования явилась ДНК клеток периферической крови первичных больных РТМ (315 пациенток, подавляющее большинство имели морфологическую форму эндометриоидной аденокарциномы) и РЯ (235 пациенток, серозная аденокарцинома), проходивших лечение в МРНЦ им. А.Ф. Цыба, и 309 практически здоровых женщин старше 40 лет. Перед забором крови они подписывали информированное согласие на проведение исследований. Генотипирование апополипротеина E проводили с помощью ПЦР с последующей обработкой ампликонов рестриктазой CFO1 (Promega, Madison, США) и определением длин фрагментов рестрикции (ПЦР/ПДРФ). Статистический анализ проводили с помощью пакета программ GraphPad Prism 8.0.1. При сравнении частот аллелей применялся точный двусторонний

критерий Фишера. Вклад аллеля в заболеваемость определяли с помощью показателя ОШ.

Результаты. Выявлено 49 здоровых женщин носительниц гаплотипа ε4, частота С (rs429358) равнялась 8 % (С/Т = 49/569) При РТМ и РЯ минорный аллель rs429358 (С) встречался с частотой 12 % (С/Т = 73/557) и 14 % (С/Т = 65/405) соответственно. Обнаружена значимая ассоциация с минорным аллелем rs429358 (С): при РТМ $p = 0,036$; ОШ 1,52, при РЯ $p = 0,002$; ОШ 1,86.

Заключение. Полиморфизм rs429358 участвует в патогенезе ЗНО матки и яичников. Необходим углубленный анализ его роли в канцерогенезе органов женской репродуктивной системы.

ИЗУЧЕНИЕ ТРАНСГЕННЫХ ЛИНИЙ КЛЕТОК С НОКАУТОМ В ГЕНАХ, ОТВЕЧАЮЩИХ ЗА МЕТАБОЛИЗМ Zn^{2+} И Mn^{2+}

М.И. Камынина¹, Ю.М. Розенберг², А.А. Буздин¹

¹ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова
Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва;
²ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт
(Национальный исследовательский университет)»,
Долгопрудный
e-mail: margaret.kamynina@gmail.com

Ключевые слова: ген, маркер, молекулярная мишень

Введение. Среди наиболее надежных дифференциальных маркеров метилирования рака толстой кишки присутствуют фрагменты генов, отвечающих за транспорт двухвалентных ионов Mn^{2+} и Zn^{2+} . В каскаде EGFR/ERK может быть задействован белок ZNT10, кодируемый геном *SLC30A10*. У него имеется функциональный гомолог – ген *SLC30A3* и антагонисты – гены *SLC39A14* и *SLC39A8*.

Цель исследования – определение роли транспортеров Mn^{2+} и Zn^{2+} в малигнизации и передаче сигнала по пути EGFR/ERK при раке толстой кишки, которая может оказаться важной как для понимания фундаментальных аспектов биологии опухолей, так и для прогноза заболевания и поиска новых молекулярных мишеней.

Материалы и методы. Модификация генома эукариотической клетки заключалась в нокауте генов *SLC30A10*, *SLC30A3*, *SLC39A14*, *SLC39A8* технологией CRISPR-Cas9. После выделения клонов результативность CRISPR проверяли генетическим тестированием на наличие мутаций, вызывающих нокаут. Проводили транскриптомное профилирование клонов и исследование их микроэлементного состава.

Результаты. Технологией CRISPR были получены 4 нокаутные линии НСТ-15 (KRAS-мутированной) по генам *SLC30A10*, *SLC30A3*, *SLC39A14* и *SLC39A8* и 3 с мутациями в генах *SLC30A3*, *SLC39A14* и *SLC39A8* для линии NuTu80. Установлены дифференциально регулируемые гены для НСТ15 клеток с измененной

экспрессией импортеров цинка и марганца *SLC39A8*, импортера марганца *SLC39A14* и экспортера марганца *SLC30A10*. Показано, что в клетках с нокаутом *SLC39A8* наблюдается значимое увеличение экспрессии 26 генов и снижение уровня экспрессии 5 генов, включая *SLC30A8*. Анализ индуцированных генов выявил ингибиторов прогрессии клеточного цикла регулируемых FOXO. Анализ нокаута экспортера марганца *SLC30A10* показал несколько больше измененных генов: 61 индуцированный ген и 10 репрессированных генов. Так же, как в случае с *SLC30A8*, мы наблюдали индукцию генов, регулируемых FOXO2 и функционирующих в прогрессии клеточного цикла. Наблюдали репрессию импортера аспартата и глутамата SLC1A3, а также цитохрома CYP1B1. Аналогично нокаут импортера марганца *SLC39A14* вызывает значимое увеличение уровня экспрессии 36 генов, включая *SLC39A8*, и репрессию 19 генов, включая митохондриальный АТФ/АДР транспортер *SLC25A6*. В то время как репрессированные гены уникальны в каждом нокауте, индуцированные гены пересекаются. На основании данных, полученных при изучении микроэлементного состава, было обнаружено, что линии с нокаутом в генах *SLC39A8*, *SLC39A14* имеют различающиеся тенденции в накоплении ионов металлов в разных линиях, тогда как мутанты обеих линий по гену *SLC30A3* больше накапливают ионы Zn^{2+} .

Заключение. По анализу нокаутных линий для НСТ-15 можно предположить, что клетка воспринимает нокауты *SLC39A8*, *SLC39A14* и *SLC30A10* как ДНК-повреждающее воздействие: включается часть механизма для замедления клеточного цикла и репарации (CDKN1A, CCND2, CCNG2) после ДНК-повреждающего воздействия, что приводит к лучшей выживаемости раковых клеток, возможно, накоплению мутаций и в итоге к худшему прогнозу у пациентов.

ВОЗДЕЙСТВИЕ НА МЕТАБОЛИЗМ МИТОХОНДРИЙ В ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫХ МАКРОФАГАХ КАК СТРАТЕГИЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА

А. Ф. Каримова¹, Н. И. Марков², Я. О. Мухамедшина¹,
М. О. Гомзикова¹, А. А. Ризванов¹, Н. А. Барлев^{1,3},
Х.-У. Симон^{1,2}, А. И. Бричкина^{1,4}

¹Лаборатория молекулярной иммунологии Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань;

²Институт фармакологии Бернского университета, Берн, Швейцария;

³кафедра биомедицинских наук, медицинский факультет, Университет Назарбаева, Астана, Казахстан;

⁴Центр онкологии и иммунной биологии, Марбургский университет им. Филиппа, Марбург, Германия
e-mail: mullahmetovaadela@gmail.com

Ключевые слова: опухолеассоциированные макрофаги, митохондрии, злокачественное новообразование

Введение. Опухолеассоциированные макрофаги (tumor-associated macrophages, TAM) представляют собой основную популяцию иммунных клеток, инфильтрирующих солидные опухоли и часто связанных с плохим прогнозом для пациентов. Протуморогенные M2-подобные макрофаги имеют тенденцию стимулировать рост раковых клеток и подавлять противоопухолевый иммунный ответ, способствуя прогрессии опухоли. Протуморогенные функции TAM требуют массивных метаболических перестроек, связанных с митохондриями, и зависят от интактного митохондриального дыхания. Таким образом, воздействие на митохондриальный метаболизм представляется многообещающей стратегией уменьшения протуморогенного эффекта макрофагов.

Цель исследования – изучение воздействия на метаболизм митохондрий в TAM как стратегии лечения рака.

Материалы и методы. Мы использовали модель мыши с условной делецией *Opa1* в макрофагах (*Opa1* Δ M), чтобы вызвать митохондриальную дисфункцию. В этой модели в макрофагах отсутствует экспрессия гена *Optic Atrophy 1 (Opa1)*. *Opa1* необходим для правильной митохондриальной структуры и динамики слияния/деления. Мы культивировали опухолевые клетки рака легкого мыши и поджелудочной железы с макрофагами костномозгового происхождения дикого типа или *Opa1* $^{-/-}$ или их кондиционированной средой. Статус активации макрофагов оценивали путем стимуляции IL4 в M1-подтип или IFN γ + LPS в M2 с последующим анализом маркерных генов с помощью qPCR.

Результаты. Макрофаги *Opa1* Δ M не могли стимулировать пролиферацию раковых клеток. Это зависело от прямого межклеточного контакта между макрофагами и опухолевыми клетками и опосредовано растворимыми факторами, продуцируемыми макрофагами (либо цитокинами/хемокинами, либо метаболитами).

Заключение. *Opa1* и нормальные функции митохондрий имеют решающее значение для проонкогенного перепрограммирования макрофагов. Лекарства, вызывающие митохондриальную дисфункцию в макрофагах, могут стать важными кандидатами для противораковой терапии.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Правительства РФ № 075-15-2021-600 и в рамках Программы стратегического академического лидерства «Приоритет 2030».

ПРОЯВЛЕНИЯ ДЕФИЦИТА ГОМОЛОГИЧНОЙ РЕКОМБИНАЦИИ (HRD) НА ГЕНОМНОМ УРОВНЕ В ОБРАЗЦАХ ДНК РАКА ЯИЧНИКОВ С ГЕРМИНАЛЬНОЙ МУТАЦИЕЙ В ГЕНЕ *BRCA1*

А.А. Кечин^{1,2}, М.А. Корюков^{1,2}, В.С. Боробова^{1,2},
Р.Е. Михеева^{1,2}, А.В. Тархов³, М.Л. Филипенко¹

¹ФГБУН «Институт химической биологии
и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск;

²Новосибирский государственный университет, Новосибирск;

³ГБУЗ НО «Городская клиническая больница №1», Новосибирск
e-mail: aa_kechin@niboch.nsc.ru

Ключевые слова: рак яичников, мутация гена, ДНК

Введение. Гомологичная рекомбинация — основной механизм репарации двуцепочечных разрывов, проходящий без внесения дополнительных мутаций в геном. При нарушении гомологичной рекомбинации (HRD) клетка становится не способна безошибочно устранять двуцепочечные разрывы, что приводит к апоптозу. Данная особенность клеток используется для терапии по принципу «синтетической летальности». Примером служат опухоли РЯ с мутациями в гене *BRCA1* или *BRCA2*: наличие патогенных мутаций в любом из этих генов делает опухоль чувствительной к ингибиторам поли-АФД-рибоза-полимеразы. Однако помимо мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2*, существует множество других механизмов появления HRD, исследование которых достаточно сложное и высокозатратное. Поэтому были разработаны геномные тесты, выявляющие последствия HRD, а именно накопление изменений числа копий (CNA) по всему геному. Для этого исследуется около 50 тыс. SNP, по которым оценивается суммарный показатель HRD. Такой подход упрощает выявление HRD, однако также является сложным и дорогим по исполнению.

Цель исследования — поиск крупных геномных перестроек, повторяющихся в образцах РЯ с мутацией в гене *BRCA1*, которые позволят проводить по ним диагностику HRD.

Материалы и методы. Три образца ДНК (два — из свежзамороженной опухолевой ткани и один — из лейкоцитов крови) были секвенированы на платформе Oxford Nanopore со средним покрытием 1–10× на образец. Для выявления крупных геномных перестроек был разработан собственный алгоритм, оформленный в виде Python-программы. Подтверждение некоторых из предсказанных крупных геномных перестроек осуществлялось с помощью ПЦР с последующим разделением фрагментов гель-электрофорезом и в некоторых случаях с секвенированием полученного фрагмента по Сэнгеру.

Результаты. Для двух образцов ДНК из опухолевой ткани, несущих герминальную мутацию в гене *BRCA1*, на порядок чаще предсказывались тандемные дубликации в расчете на 1 тыс. прочитанных нуклеотидов, чем для образца ДНК из лейкоцитов крови, что согла-

суется с данными литературы о проявлении HRD, вызванного мутацией в гене *BRCA1*. В то же время нами были определены точные границы данного типа перестроек и получены их последовательности, что в дальнейшем будет использовано для поиска перестроек, повторяющихся в образцах ДНК из опухолевой ткани РЯ с мутацией в гене *BRCA1*.

Заключение. Полученные на сегодняшний день результаты не противоречат идее обнаружения HRD в образцах опухоли по повторяющимся крупным геномным перестройкам.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 23-74-01138 «Новые алгоритмы выявления крупных геномных перестроек для диагностики дефицита гомологичной рекомбинации»).

ИДЕНТИФИКАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ РАЗЛИЧИЙ МЕЖДУ CD133⁺ — НЕЙРАЛЬНЫМИ СТВОЛОВЫМИ / ПРОГЕНИТОРНЫМИ КЛЕТКАМИ И CD133⁺ — СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ ГЛИБЛАСТОМЫ

Т.И. Кушнир¹, Н.Е. Арноцкая¹, А.С. Брюховецкий²,
В.Е. Шевченко¹

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

²Клинический госпиталь «НейроВита», Москва
e-mail: winard2@mail.ru

Ключевые слова: стволовые клетки, глиобластома, фенотип

Введение. Вопрос о происхождении стволовых клеток глиобластомы (СКГ), играющих важную роль в резистентности глиобластомы к противоопухолевой терапии и развитию рецидива заболевания, пока остается открытым. Считается, что СКГ могут образовываться в результате онкогенной трансформации нейральных стволовых и прогениторных клеток (НСПК), имеющих схожие с ними морфологические и функциональные свойства. Несмотря на заметный прогресс в выяснении природы СКГ, пока мало известно о специфически экспрессируемых генах и транскриптах в этих клетках в сравнении с НСПК. В связи с этим актуальным становится изучение молекулярных механизмов глиоматоза с использованием модельных клеточных систем на основе различных клонов СКГ (например, содержащих маркер CD133) в сравнении с вероятным источником их происхождения.

Цель исследования — проведение сравнительного транскриптомного анализа CD133⁺—НСПК и CD133⁺—СКГ для изучения молекулярно-генетических различий между фенотипами этих клеток и идентификации потенциальных мишеней для терапевтического воздействия на СКГ.

Материалы и методы. Использовались высокочувствительный транскриптомный анализ на микрочипах

высокой плотности, клеточные технологии, современный биоинформатический анализ.

Результаты. Транскриптомный анализ СКГ и НСПК идентифицировал 1825 дифференциально экспрессированных генов. В результате использования современных биоинформатических методов установлены биологические процессы и сигнальные каскады, активированные в СКГ. Показано, что значительные транскриптомные aberrации в СКГ по сравнению с НСПК прежде всего обусловлены группами транскриптов, регулируемых сигнальными каскадами SHH, MTOR, ALK, факторами транскрипции E2F1, PRC2, HOXA9, MYC, а также онкогенами *ERBB2* и *KRAS*. Идентифицированы и аннотированы 6 транскриптов (AQP9, TOX15, HOXB2, STEAP3, TREM1, RFC2), связанных с глиомагенезом, которые могут использоваться для таргетирования СКГ.

Заключение. Транскриптомный анализ модельной системы на основе CD133⁺ – СКГ и CD133⁺ – НСПК может успешно использоваться для изучения природы СКГ. Установлен ряд значительных молекулярно-генетических различий между двумя фенотипами клеток, которые могут использоваться при разработке терапии, направленной против СКГ.

РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ ДЛЯ ЖИДКОСТНОЙ БИОПСИИ С УЧЕТОМ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ОТДЕЛЬНЫХ ТИПОВ ОПУХОЛЕЙ

Н.Л. Лазаревич^{1,2}, А.Д. Горев¹, И.Ф. Кустова¹,
О.М. Кривцова¹, Д.А. Шавочкина¹, Н.Е. Кудашкин¹,
Ю.И. Патютко¹, П.М. Абрамов¹, М.Д. Федорова¹,
Р.С. Фасхутдинов¹, А.Н. Катаргин¹, К.И. Жордания¹,
С.В. Винокурова¹

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

²ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва
e-mail: lazarevich.nl@gmail.com

Ключевые слова: жидкостная биопсия, соматические мутации, метилирование ДНК, гепатоцеллюлярная карцинома, рак яичников

Введение. Жидкостная биопсия, основанная на выявлении в биологических жидкостях организма фрагментов нуклеиновых кислот, специфических для опухолевых клеток, является многообещающим подходом для малоинвазивной диагностики, прогноза течения заболевания, мониторинга результатов лечения или выбора персонализированных схем лекарственной терапии. К настоящему времени наибольшее развитие получили методы определения в биологических жидкостях циркулирующих ДНК (цДНК), содержащих генетические или эпигенетические нарушения, характерные для опухолевых клеток. Принципиальным параметром, определяющим потенциал использования этого подхода в клинической практике, является

рациональный выбор опухолеспецифических маркеров и разработка оптимальных методов для их выявления.

Цель исследования – суммировать опыт нескольких проведенных нами исследований по оптимизации выбора ДНК-маркеров и разработке методов их выявления для двух форм ЗНО с высокой степенью межопухолевой гетерогенности – гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) и РЯ.

Материалы и методы. В качестве маркеров для жидкостной биопсии были исследованы: набор соматических потенциально драйверных мутаций, индивидуально выявленный для отдельных случаев ГЦК на основе полнотранскриптомного секвенирования, соматические мутации в 3-м экзоне гена *CTNNB1*, а также маркерные локусы, специфически гиперметилированные в образцах ГЦК или РЯ. Для выявления маркеров использованы методы таргетного высокопроизводительного секвенирования ампликонов на платформе Illumina MiSeq, метод капельной ПЦР с зондами TaqMan (QX200, Bio-Rad), бисульфитная конверсия и метил-специфическая ПЦР-РВ с зондами TaqMan (MS-PCR).

Результаты. Детекция методами таргетного секвенирования персонализированного набора из 6–8 соматических мутаций, выявленных в результате высокопроизводительного секвенирования опухолевой ткани каждого конкретного пациента с ГЦК, позволила выявить те же опухолеспецифические мутации с долей мутантного варианта 0,3–29,6 % в общем пуле цДНК из соответствующих образцов плазмы крови. Эти данные хорошо коррелируют с результатами детекции отдельных генов методом цифровой ПЦР. Предложенный подход может быть использован для мониторинга и подбора персонализированных схем лечения, но является наиболее дорогим и времязатратным. Соматические мутации, затрагивающие N-конец бета-катенина, характерны для ~20 % пациентов с ГЦК и ассоциированы с нечувствительностью к терапии ингибиторами иммунных чекпойнтов. Из 14 проанализированных случаев ГЦК, в которых в опухолевой ткани была выявлена мутация *CTNNB1*, в цДНК из плазмы крови тех же пациентов аналогичная замена была выявлена при таргетном секвенировании в 100 % случаев, доля мутантного аллеля составила от 0,3 до 6,8 %. Для образцов ГЦК и РЯ нами были идентифицированы геномные локусы, гиперметилирование которых характерно для нескольких форм ЗНО и позволяет дифференцировать их от доброкачественных опухолей и нормальных тканей. Разработаны методы детекции маркеров метилирования методом MS-PCR в цДНК из плазмы крови или клеток из аспиратов полости матки. При анализе цДНК чувствительность набора из нескольких маркеров достигает 74 %, доля метилированных вариантов в общем пуле цДНК определяется в интервале 0,6–37,2 %. При анализе аспиратов анализ одного маркерного локуса обеспечивает чувствительность 64 %.

Заключение. Малоинвазивное выявление соматических мутаций в 3-м экзоне гена *CTNNB1* в цДНК пациентов с ГЦК методом таргетного секвенирования с высоким покрытием может быть использовано для прогнозирования устойчивости к терапии ингибиторами контрольных точек иммунитета. Для разработки методов диагностики нозологий, для которых характерна высокая межопухолевая гетерогенность драйверных генетических нарушений, наиболее перспективно использование в качестве маркеров специфически гиперметилированных локусов ДНК, которые могут быть выявлены методом метилспецифической ПЦР-РВ.

РОЛЬ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ ГЕНОВ ДЛИННЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК *SSTR5-AS1* И *ZEB1-AS1* ПРИ РАКЕ ЯИЧНИКОВ

С.С. Лукина¹, А.М. Бурденный^{1,2}, И.В. Пронина¹,
Е.А. Филиппова¹, Т.П. Казубская³, Н.Е. Кушлинский³,
В.И. Логинов¹, Э.А. Брага¹

¹ФГБНУ «НИИ патологии и патофизиологии», Москва;

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

³ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, Москва
e-mail: sveta_sergeevna349@mail.ru

Ключевые слова: длинные некодирующие РНК, рак яичников, метастазы

Введение. РЯ характеризуется бессимптомным развитием вплоть до терминальных стадий и представляет собой группу агрессивных гетерогенных злокачественных опухолей эпителиального происхождения с высоким риском образования метастазов. Известно, что длинные некодирующие РНК (днРНК) вовлечены в регуляцию экспрессии генов и таким образом могут влиять на патофизиологические процессы, приводящие к развитию РЯ. Исследование эпигенетических механизмов регуляции самих днРНК может помочь в понимании роли этих молекул в развитии и метастазировании РЯ.

Цель исследования — оценка связи уровня экспрессии и метилирования генов днРНК *SSTR5-AS1* и *ZEB1-AS1* с прогрессией РЯ.

Материалы и методы. Анализ уровней метилирования и экспрессии проводили с применением количественной метилспецифической ПЦР и количественной ПЦР-РВ. Для оценки значимости различий между исследуемыми группами применяли непараметрический критерий Манна–Уитни для независимых выборок (RStudio).

Результаты. Показано статистически значимое увеличение уровня метилирования в образцах опухоли в сравнении с парной нормой для генов *SSTR5-AS1* и *ZEB1-AS1* ($p < 0,001$, FDR = 0,1). При этом выявлено снижение экспрессии этих днРНК в опухолевой ткани

($p < 0,001$, FDR = 0,1) и отрицательная корреляция между изменениями уровней метилирования и экспрессии ($R_s = (-0,4) - (-0,6)$, $p \leq 0,003$). Анализ с учетом патоморфологических особенностей РЯ выявил статистически значимое ($p \leq 0,05$, FDR = 0,1) повышение уровня метилирования этих генов на более поздних стадиях и с понижением степени дифференцировки опухоли. Интересной особенностью для группы генов днРНК *SSTR5-AS1* и *ZEB1-AS1* явилось статистически значимое ($p < 0,05$, FDR = 0,1) снижение уровня метилирования в макрометастазах брюшины относительно исходной опухоли. Этот эффект может быть связан с процессом aberrантной реверсии ЭМП при колонизации метастазов.

Заключение. Таким образом, гены днРНК *SSTR5-AS1* и *ZEB1-AS1* вовлечены в патогенез РЯ, а также связаны с метастазированием, что позволяет использовать эти днРНК в качестве потенциальных прогностических маркеров.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 20-15-00368-П).

СКРИНИНГ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПЕСТИЦИДОВ КАРБАРИЛА, МАНКОЗЕБА, ПЕНДИМЕТАЛИНА, ТИРАМА И ХЛОРПИРИФОСА ПРИ КРАТКОСРОЧНОЙ И ДЛИТЕЛЬНОЙ ЭКСПОЗИЦИИ

В.П. Максимова¹, А.Ю. Букина¹⁻³, В.Г. Попова^{1,2},
Г.А. Белицкий¹, М.Г. Якубовская^{1,2}, К.И. Кирсанов^{1,2}

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

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

³ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический
университет», Москва
e-mail: lavarvar@gmail.com

Ключевые слова: скрининг, пестициды, тест-система HeLa T1

Введение. Пестициды представляют одну из самых больших групп промышленных соединений, используемых в современном мире. Многие пестициды способны оказывать влияние на систему эпигенетической регуляции транскрипции, что в настоящее время рассматривается в качестве одной из ключевых характеристик канцерогенных агентов. По этой причине ряд агентов, среди которых карбарил, манкозеп, пендиметалин, тирам и хлорпирифос, были включены Международным агентством по изучению рака в группу соединений с высоким приоритетом исследования.

Цель исследования — изучение эпигенетической активности пестицидов карбарила, манкозеба, пендиметалина, тирама и хлорпирифоса при краткосрочном и длительном действиях с помощью тест-системы HeLa T1.

Материалы и методы. Анализ интегральной эпигенетической активности соединений осуществляли

с помощью популяции клеток HeLa T1 с эпигенетически репрессированным вектором, кодирующим ген *GFP*. Клетки инкубировали с пестицидами, после чего проводили проточную цитометрию для оценки количества GFP-положительных клеток. Влияние пестицидов в нетоксичных концентрациях исследовали при краткосрочной экспозиции (24 ч, с последующим культивированием 48 ч без веществ), а также при длительной экспозиции — 10 и 20 дней, в течение которых клетки постоянно инкубировали в среде с пестицидами с пересадкой на 4, 8, 11, 15 и 18-е сутки. В качестве положительного контроля использовали вориностат. Статистический анализ данных осуществляли с помощью однофакторного анализа ANOVA (при пороговом значении $p < 0,05$).

Результаты. При краткосрочном действии пестицидов статистически значимое увеличение числа GFP+-клеток было продемонстрировано только для тирама (в 6,2 раза при 0,4 мкМ). При этом данная концентрация пестицида оказалась токсичной при экспозиции 10 и 20 дней. При действии пониженной дозы 0,02 мкМ (неактивной в краткосрочном тесте) была показана тенденция к увеличению доли GFP+-клеток в 1,6 и 2,1 раза при 10- и 20-дневной экспозиции соответственно. Повышение уровня реактивации экспрессии GFP в клетках HeLa T1 при действии карбарила (10 мкМ), манкозеба (0,2 мкМ), пендиметалина (7 мкМ) и хлорпирифоса (10 мкМ) детектировано не было.

Заключение. Пестицид тирам обладает способностью реактивировать эпигенетически репрессированные гены при индивидуальном действии, как при краткосрочной, так и при длительной экспозиции. Для карбарила, манкозеба, пендиметалина, хлорпирифоса такой активности в тест-системе HeLa T1 выявлено не было.

Работа была выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 23-25-00541).

АНАЛИЗ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФНОГО ЛОКУСА RS11209026 ГЕНА *IL23R* С РИСКОМ РАЗВИТИЯ РАКА ЯИЧНИКОВ У ЖЕНЩИН ИЗ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

Э.Т. Мингажева¹, Я.В. Валова^{1,2}, А.В. Сагитова¹,
В.Ю. Ахтямова¹, Е.А. Андреева¹, Д.С. Прокофьева¹,
Р.Р. Фаисханова³, Э.К. Хуснутдинова^{1,4}

¹ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», Уфа;

²ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», Уфа;

³ГБУЗ Республиканский клинический онкологический диспансер, Уфа;

⁴Институт биохимии и генетики — обособленное структурное подразделение ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр РАН», Уфа
e-mail: elvira.f91@mail.ru

Ключевые слова: рак яичников, иммунные клетки, полиморфный локус

Введение. РЯ — наиболее агрессивная опухоль среди злокачественных новообразований женской репродуктивной системы, занимающая лидирующее место по смертности среди онкогинекологических заболеваний. Исследования последних лет подчеркивают участие иммунной системы, в процессе развития и прогрессирования РЯ, включая взаимодействие иммунных клеток в микроокружении опухоли.

Цель исследования — анализ ассоциации полиморфного локуса rs11209026 гена *IL23R* с риском развития РЯ у женщин из Республики Башкортостан.

Материалы и методы. В качестве материала исследования были использованы образцы ДНК, выделенные из венозной крови больных наследственными формами РЯ ($n = 68$), больных спорадическими формами РЯ ($n = 144$) и женщин без онкологических заболеваний на момент забора крови ($n = 313$). Генотипирование проводилось методом Real-time PCR.

Результаты. При сравнении групп больных спорадическим РЯ, наследственным РЯ и условно здоровых женщин, согласно этнической принадлежности и в общей выборке, а также при разделении пациенток на подгруппы согласно менопаузальному статусу, не было обнаружено достоверных различий между исследованными выборками.

Заключение. Таким образом, полиморфный вариант rs11209026 гена *IL23R* не ассоциирован с риском развития и тяжестью течения РЯ. Для подтверждения полученных результатов необходимы репликативные исследования на расширенных выборках.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России (№ 075-03-2021-193/5) и гранта Президента РФ (соглашение № 75-15-2023-329 от 22.02.23).

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА RS1048108 ГЕНА *VAR1* С УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМОЙ У ПАЦИЕНТОВ РУССКОЙ ЭТНИЧЕСКОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ ИЗ ЦЕНТРАЛЬНОЙ РОССИИ

Л. Мухана¹, Аит Аисса А.¹, С.В. Саакян^{2,3},
А.Ю. Цыганков^{2,3}, М.М. Азова¹

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва;

²ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, Москва;

³ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва

e-mail: dr.loujain.mh@live.ru

Ключевые слова: увеальная меланома, внутриглазные новообразования

Цель исследования — изучение полиморфизма rs1048108 (pro24ser) гена *BARD1* у пациентов с меланодитарными внутриглазными новообразованиями.

Материалы и методы. В рамках представленного исследования проанализированы данные 65 пациентов, разделенных на две группы: пациенты основной группы с увеальной меланомой (УМ) и прогрессирующим невусом хориоидеи ($n = 42$) и пациенты группы риска с доброкачественным невусом хориоидеи ($n = 23$). В группу контроля вошли добровольцы без онкологической патологии ($n = 61$). Все участники исследования относили себя к русской этнической группе и проживали в Центральной России. Геномная ДНК была выделена из периферической крови. Генотипирование проводили методом ПЦР с последующей рестрикцией ДНК. Для анализа результатов рестрикции использовали электрофорез в 2 % агарозном геле. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программного обеспечения на языке R.

Результаты. Анализ распределения генотипов по полиморфному локусу BARD1 rs1048108 выявил значимо более высокую частоту гомозигот ТТ в основной группе (31,0 %, $p = 0,0001$) и в группе риска (21,7 %, $p = 0,012$) в сравнении с контрольной группой (4,9 %). Следует отметить, что в контрольной группе преобладают гетерозиготы СТ (54,1 %), в то время как среди пациентов с УМ их частота находится на низком уровне (7,1 %). В группе риска соответствующий показатель составил 30,4 %. Частоты аллелей С и Т составили 65,5 и 34,5 % в основной группе, 63 и 37 % в группе риска, 68,1 и 31,9 % в контрольной группе соответственно. Можно полагать, что гомозиготный генотип ТТ является маркером предрасположенности к УМ у пациентов из Центральной России (ОШ 8,536; 95 % ДИ 3,159–23,069), а гетерозиготность по соответствующему локусу – маркером протекции (ОШ 0,064; 95 % ДИ 0,027–0,152).

Заключение. Согласно данным нашего исследования, полиморфизм BARD1 rs1048108 ассоциирован с УМ и может быть использован для оценки генетической предрасположенности к УМ и прогрессирующему невусу хориоидеи.

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ РОЛЬ CD44 ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ

С.Н. Наврузов, А.М. Хакимов, Б.С. Наврузов,
С.Т. Рахмонов

Клиника “Yangi hayot”, Узбекистан, Ташкент
e-mail: abduvali.68@mail.ru

Ключевые слова: колоректальный рак, маркер, изоформа CD44

Введение. Колоректальный рак (КРР) представляет собой ЗНО, которое в структуре всех нозологических единиц ЖКТ занимает одно из первых мест. КРР медленно прогрессирует, клиническая картина сопровождается эндогенной интоксикацией, обусловленной биохимическими процессами канцерогенеза. Развитие молекулярной онкологии требует поиска прогности-

ческих маркеров, позволяющих определять тактику ведения пациентов, исход и прогноз. CD44 является трансмембранным гликопротеином, впервые выявленным на лимфоцитах, связан с биологическими свойствами опухолей, такими как пролиферация, метастазирование, рецидивы, устойчивость к лучевой и химиотерапии (ХТ). В настоящее время обнаружены его изоформы, которые могут служить прогностическими факторами при КРР, осуществляя защиту от антиферментативного окисления.

Цель исследования – определение уровня изоформ CD44 и его значимости в качестве прогностического маркера при КРР.

Материалы и методы. Оценка уровня изоформ CD44 с общей выживаемостью и клинико-патологическими особенностями больных КРР. Экспрессия уровня CD44 и его изоформ изучалась в тканях опухоли верифицированного КРР после оперативного вмешательства у 33 больных, проходивших лечение в условиях частной хирургической клиники “Yangi hayot”. Проведена оценка уровня выживаемости, а также клинической картины с последующей статистической обработкой.

Результаты. Изучение уровня экспрессии CD44 и его изоформ показало, что высокий уровень общих изоформ достоверно связан с ухудшением общего состояния больных КРР. Установлено, что метастатический фенотип ассоциирован с экспрессией изоформы CD44 v2–10, более высокий уровень CD44 v6 определяется при колоректальной карциноме. С повышенной экспрессией CD44 ассоциирован неблагоприятный прогноз и выживаемость, что, по всей видимости, обусловлено низкой дифференцировкой и ее отсутствием при КРР, что подтверждается корреляцией с метастазированием в ЛУ, как близлежащие, так и отдаленные. Полученные результаты подтверждают имеющиеся данные о значимости этого маркера при прогнозе КРР.

Заключение. Анализ экспрессии CD44 и его изоформ показал наличие прогностической ценности при КРР. Положительная экспрессия CD44 коррелирует с низкой общей выживаемостью, низкой дифференцировкой и метастазированием в ЛУ. Поиск маркеров этого типа требует дальнейшего изучения.

АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ ВСТРЕЧАЕМОСТИ ПАТОГЕННЫХ МУТАЦИЙ РЯДА ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА ИЗ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

А.Х. Нурғалиева¹, М.Д. Масалимова¹, Р.Ф. Саттаров¹,
Л.Ф. Галлямова¹, С.Г. Петрова¹, Ю.Ю. Федорова¹,
А.А. Григорьева¹, Д.С. Прокофьева¹, Р.Р. Рахимов²,
Д.Д. Сакаева³, Р.Р. Абдеев², Э.К. Хуснутдинова^{1,3}

¹ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», Уфа;

²ГБУЗ Республиканский клинический онкологический диспансер, Уфа;

³ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», Уфа
e-mail: alfiyakh83@gmail.com

Министерства науки и образования Республики
Башкортостан № 1 от 14 августа 2023,
тема № 031-БФ-ГМ-ГБ-23.

Ключевые слова: рак желудка, патогенные мутации, диагностика заболевания

Введение. Рак желудка (РЖ) — одно из тяжелейших заболеваний, занимающее лидирующие позиции среди причин смерти от ЗНО в мире.

Цель исследования — поиск патогенных и вероятно патогенных герминальных и соматических генетических вариантов, которые могут вносить вклад в развитие РЖ.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили образцы ДНК больных РЖ ($n = 400$) и здоровых доноров ($n = 400$), проживающих в РБ. Геномную ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Исследование экзонов на наличие изменений нуклеотидной последовательности проводили методом HRM. Полногеномное секвенирование экзона проводили на платформе Illumina Genome Analyzer HiSeq 2000. Для верификации молекулярно-генетических изменений использовали секвенирование по Сэнгеру.

Результаты. Поиск изменений в гене *CDH1* у пациентов с РЖ обнаружил изменения нуклеотидной последовательности в 11-м (rs35741240 (с.1680G>C)), 12-м (rs33969373 (с.1896C>T)) и 14-м (rs33964119 (с.2253C>T)) экзонах гена *CDH1*. Полное экзомное секвенирование по технологии NGS 18 образцов ДНК опухолевой ткани и прилежащей к ней гистологически нормальной ткани, полученных от пациентов с РЖ, выявило 3 патогенных варианта: с.1320+1G>A гена *CDH1* и с.27_28ins-CCCAGCCCCAGTACCA (p.Ala9fs) гена *VEGFA* обнаружены только в опухолевой ткани, с.G1874C (p.Cys625Ser) гена *FANCA* — в опухолевой и нормальной тканях. Все изменения выявлены у пациентов с диффузным типом РЖ. Проведен скрининг мутаций методом ПЦР-РВ в генах: *BRCA1* (с.68_69delAG, с.4035delA, с.5266dupC, с.700_3704del-GTAAA, с.3756_3759delGTCT, с.181T>G, с.1961delA); *BRCA2* (с.5946delT); *NBS1* (с.657_661del-GTTTT); *CHEK2* (с.1100delC, с.115+1G>A). Всего выявлено 7 носителей мутаций в гетерозиготном состоянии: 2 пациента башкирской и татарской этнической принадлежности имеют герминальную мутацию — с.5266dupC в гене *BRCA1*, 1 женщина татарка имеет с.3756_3759del-GTCT в гене *BRCA1*, двое мужчин русской этнической принадлежности — носители с.657_661del-GTTTT в гене *NBS1*, 2 пациента татарской и русской этнической принадлежности — носители с.115+1G>A гена *CHEK2*.

Заключение. Установленные нами данные и полученные результаты могут быть востребованы для разработки новых подходов к ранней диагностике заболевания.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России (ГЗ № 075-03-2021-193/5), Соглашение

АНАЛИЗ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ АЛЛЕЛЯ RS61754966 ГЕНА *NBN* СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ ПЕЧЕНИ

Д.Д. Озерова^{1,2}, О.М. Кривцова¹, И.Ф. Кустова¹,
Д.А. Шавочкина¹, Н.А. Дьякова¹, Н.Е. Кудашкин¹,
Ю.И. Патютко¹, Н.Л. Лазаревич^{1,2}

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

²ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва
e-mail: dishaumalin@yandex.ru

Ключевые слова: гепатоцеллюлярная карцинома, аллель, *NBN*

Введение. Ген *NBN*, кодирующий компонент MRN-комплекса, который участвует в репарации двуцепочечных разрывов ДНК, является частой мишенью миссенс-мутаций при гепатоцеллюлярном (ГЦР) в 9,4 % и холангиоцеллюлярном раке (ХЦР) в 11,1 % случаев соответственно (Wang Y. et al., 2013). Наличие функционально значимых герминативных вариантов в гене *NBN* может быть ассоциировано с повышенным риском развития ГЦР и ХЦР.

Цель исследования — оценить распространенность редкого, потенциально патогенного аллеля rs61754966 гена *NBN* среди пациентов с ГЦР и ХЦР.

Материалы и методы. ДНК выделяли из образцов неопухолевой ткани печени и лимфоцитов пациентов с ГЦР невирусным (ГКН, $n = 158$) и вирусным (ГКВ, $n = 227$), ХЦР ($n = 95$) и здоровых доноров ($n = 112$). Для генотипирования rs61754966 был разработан метод капельной ПЦР с зондами TaqMan с использованием системы QX200 (Bio-Rad). Для оценки статистической значимости различий между выборками использовали двусторонний точный тест Фишера, для анализа корреляций между генотипом и клиническими характеристиками — коэффициент Спирмена.

Результаты. Частота встречаемости аллеля rs61754966 *NBN* при ГЦР составила 1,04 % (1,27 % в группе ГКН и 0,88 % в группе ГКВ), что статистически значимо выше по сравнению с частотой 0,26 % для европейской популяции по данным GnomAD ($p = 0,001$). Относительный риск (ОР) развития ГЦР у гетерозиготных носителей рассматриваемого варианта выше, чем у гомозигот по референсному варианту гена *NBN* (ОР 4,04; 95 % ДИ 2,02–8,07). При ГКН ОР составляет 4,98 (1,86–13,38), при ГКВ — 3,45 (1,29–9,22). Среди пациентов с ХЦР выявлен 1 (0,53 %) гетерозиготный носитель. В контрольной группе rs61754966 не выявлен. У пациентов с ГЦР выявлены слабые положительные корреляции между наличием аллеля rs61754966 и стадией опухолевого процесса.

Заключение. Аллель rs61754966 гена *NBN* выявляется у пациентов с ГЦР различной этиологии чаще, чем в общей популяции, что указывает на его возможную роль в патогенезе ГЦР и необходимость проведения исследований на расширенных выборках образцов.

Работа поддержана стипендией Президента РФ.

СПЕКТР И ЧАСТОТА ПАТОГЕННЫХ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ, АССОЦИИРОВАННЫХ С НАСЛЕДСТВЕННЫМ РАКОМ ЯИЧНИКОВ, У ЖЕНЩИН РАЗНОГО ЭТНИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Д.С. Прокофьева¹, Я.В. Валова¹, Э.Т. Мингажева¹,
А.В. Сагитова¹, Ю.Ю. Федорова¹, Р.Р. Фаисханова²,
Д.Д. Сакаева³, А.Х. Нурғалиева¹, Н.В. Екомасова¹,
Е.А. Андреева¹, Э.К. Хуснутдинова^{1,3,4}

¹ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», Уфа;

²ГБУЗ Республиканский клинический онкологический диспансер, Уфа;

³ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», Уфа;

⁴Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр РАН», Уфа
e-mail: dager-glaid@yandex.ru

Ключевые слова: рак яичников, семейные формы, патогенные мутации, этноспецифические генетические маркеры

Введение. РЯ занимает 3-е место по распространенности среди гинекологических видов рака, уступая лишь ЗНО эндометрия и шейки матки. Ежегодно в России диагностируется более 14 тыс. новых случаев РЯ, половина из которых имеют летальный исход. Высокую смертность связывают с бессимптомным характером заболевания на ранних стадиях и отсутствием эффективных методов скрининга. РЯ имеет полигенную природу. Генетические факторы оказывают важное влияние на этиологию заболевания. Около 5–10 % всех случаев РЯ являются семейными, а около 15–25 % случаев наследственного рака яичников (НРЯ) опосредованы высокопенетрантными мутациями в генах *BRCA1* и *BRCA2*. Идентифицированы и другие гены со средней и низкой пенетрантностью, ассоциированные с риском развития РЯ. Высокие показатели заболеваемости и смертности от данного типа рака указывают на необходимость более глубокого понимания молекулярно-генетической основы заболевания, что, в свою очередь, будет способствовать разработке новых подходов к диагностике и лечению РЯ.

Цель исследования – изучение спектра и частоты патогенных мутаций в генах, ассоциированных с НРЯ, у женщин разного этнического происхождения.

Материалы и методы. Материалом для полногеномного исследования послужили образцы ДНК, выделенные из венозной крови 48 женщин с установленным диагнозом «эпителиальный рак яичников». Для ассо-

циативного исследования были использованы образцы ДНК, выделенные из венозной крови 219 больных РЯ, без учета семейной истории и 317 условно здоровых женщин без онкологических заболеваний на момент забора крови. В работе использованы стандартные методы молекулярно-генетического анализа: выделение ДНК методом фенольно-хлороформной экстракции, таргетное NGS-секвенирование на платформе Illumina MiSeq, HRM-анализ, ПДРФ-анализ, статистическая обработка полученных данных.

Результаты. Мы провели таргетное секвенирование 21 гена-кандидата, включая прилегающие нетранслируемые регионы, в образцах геномной ДНК 48 больных с НРЯ из Республики Башкортостан. Выявили патогенные варианты в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *MSH6* и *NBN* у 16 (33 %) пациентов. О варианте, приводящем к остановке синтеза белка в гене *NBN*, p.W143X, ранее не сообщалось. Семь (15 %) пациенток были носительницами мутации c.5266dupC в гене *BRCA1*, что подтверждает российское происхождение этой мутации. Было обнаружено еще 15 вариантов неопределенного клинического значения. Мы пришли к выводу, что наша генная панель выявляет около 1/3 случаев НРЯ в Республике Башкортостан. Все отобранные по результатам биоинформатического анализа генетические варианты были включены в исследование «случай – контроль». Скрининг 4 патогенных вариантов и 9 вариантов с неясной клинической значимостью проводили на расширенных выборках больных РЯ ($n = 219$) и условно здоровых женщин ($n = 317$). Мы обнаружили, что вероятно патогенный миссенс-вариант c.1187G>A (p.Gly396Asp) гена *MUTYH* незначительно чаще встречался среди пациенток с РЯ (0,95 %) по сравнению с контролем (0,63 %). С низкой частотой среди больных РЯ был идентифицирован патогенный вариант c.3700_3704delGTAAA гена *BRCA1* – 0,64 %.

Заключение. В целом разработанная нами NGS-панель объясняет 1/3 случаев НРЯ в Республике Башкортостан. В результате ассоциативного исследования обнаружено, что у больных РЯ из региона с низкой частотой встречаются мутации в генах *BRCA1* и *MUTYH*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России (№ 075-03-2021-193/5).

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО НА ОСНОВЕ МИКРОРНК-МАРКЕРОВ

И. В. Пронина^{1,2}, Т. П. Казубская³, В. И. Логинов¹

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

²ФГБОУ «Государственный университет просвещения», Москва;

³ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина»
Минздрава России, Москва
e-mail: zolly_sten@mail.ru

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, аденокарцинома легкого, плоскоклеточный рак легкого, микроРНК, дифференциальная диагностика

Введение. На немелкоклеточный рак легкого (НМКРЛ) приходится 85–90 % случаев РЛ. При диагностике НМКРЛ важно не только его раннее обнаружение, но и определение гистологической формы. Для быстрой дифференциальной диагностики гистологических форм НМКРЛ могут быть использованы микроРНК-маркеры.

Цель исследования — изучение экспрессии 20 микроРНК при НМКРЛ для определения возможности их использования в дифференциальной диагностике аденокарциномы и ПКРЛ.

Материалы и методы. 40 парных образцов опухолей НМКРЛ собраны, клинически и гистологически охарактеризованы в НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина. Экспрессию микроРНК исследовали методом количественной ПЦР с использованием TaqMan™ MicroRNA Reverse Transcription Kit и TaqMan™ Fast Universal PCR Master Mix, а также MicroRNA Assays (Applied Biosystems, США). Для оценки значимости различий между исследуемыми группами применяли непараметрический критерий Манна–Уитни для независимых выборок.

Результаты. Проанализирована экспрессия микроРНК, участвующих в регуляции генов апоптоза и метастазировании. Выявлено снижение экспрессии miR-34b, -34c-3p, -375 и увеличение экспрессии miR-9 в 60 % и более случаев НМКРЛ независимо от гистологической формы ($p < 0,01$), примерно в 30 % случаев НМКРЛ наблюдали умеренное (до 5 раз) повышение экспрессии miR-129 ($p < 0,05$). Повышенная экспрессия miR-137 была выявлена нами только в образцах аденокарциномы легкого ($p < 0,01$). Следует отметить, что уровень экспрессии miR-9 повышался в опухоли по сравнению с прилегающей нормальной тканью легкого во всех исследованных нами парных образцах, причем при ПКРЛ он был в 20–150 раз выше, а при аденокарциноме — в 5–20 раз ($p < 0,05$).

Заключение. Выявленные нами дифференциально экспрессируемые микроРНК (miR-34b, -34c-3p, -375, -9 и -137) участвуют в патогенезе НМКРЛ и в перспективе могут быть использованы в диагностике, в том числе дифференциальной диагностике аденокарциномы и ПКРЛ.

НЕКОДИРУЮЩИЕ РНК В КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ ЛЕЙКЕМИИ КАК МАРКЕРЫ РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

Е. В. Расторгуева, Е. С. Погодина, А. А. Ермакова,
Е. В. Юрова

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет»,
Ульяновск
e-mail: rastorgueva.e.v@yandex.ru

Ключевые слова: нкРНК, мякРНК, микроРНК, радиочувствительность, раковые клетки, маркерные хромосомы

Введение. Изучение проблемы радиорезистентности раковых клеток занимает одно из ключевых мест. Для ее решения наряду с другими эпигенетическими регуляциями изучается экспрессия некодирующих РНК (нкРНК). Мы изучили микроРНК и малые ядрышковые РНК (мякРНК) и их исторических предшественников. В литературе больше данных о микроРНК, которые способствуют как росту опухоли, так и ее подавлению. МякРНК также участвуют в развитии многих заболеваний. Их основная функция — псевдоуридилрование и метилирование рибосомных РНК (рРНК). Нарушение экспрессии данных нкРНК приводит к нарушению пролиферации, ангиогенезу и другим процессам, связанным с раком.

Цель исследования — оценить возможность использования нкРНК в качестве биомаркеров радиорезистентности в клеточных линиях лейкемии с разным уровнем хромосомных аномалий.

Материалы и методы. Данные экспрессии микроРНК и мякРНК получили после NGS-секвенирования. Исследование проводили на радиорезистентной K562 и радиочувствительной HL-60 клеточных линиях лейкемии после облучения в дозе 4 Гр. Обработку данных осуществляли при помощи сервиса GenXPro и базы данных NCBI.

Результаты. Изученные клеточные линии отличаются по наличию хромосомных аберраций. Изменение числа копий нормальных хромосом показало небольшие изменения в экспрессии нкРНК. Наличие же маркерных хромосом существенно повлияло на их экспрессию.

Заключение. В качестве маркеров радиорезистентности не стоит использовать показатели экспрессии нкРНК в аномальных хромосомах клеток лейкемии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России (грант № 123020700216–4 (FEUF 2023–0004)).

ВОЗМОЖНОСТЬ МИНИМАЛЬНО ИНВАЗИВНОЙ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ МЕЛАНОЦИТАРНЫХ ВНУТРИГЛАЗНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

С.В. Саакян^{1,2}, А.Ю. Цыганков^{1,2}, Е.Б. Мякошина^{1,2},
А.М. Бурденный³, В.И. Логинов³

¹ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца»
Минздрава России, Москва;

²ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова» Минздрава
России, Москва;

³ФГБУН «НИИ общей патологии и патофизиологии», Москва
e-mail: alexisygankov1986@yandex.ru

Ключевые слова: увеальная меланома, невус хориоидеи, цоДНК, *GNAQ*, *GNA11*, *ABCB1*

Введение. Увеальная меланома (УМ) — наиболее распространенная первичная внутриглазная злокачественная опухоль у взрослых и вторая по распространенности форма меланомы после меланомы кожи. Несмотря на относительную редкость (до 6–10 случаев на 1 млн населения), опухоль ассоциирована с высоким уровнем смертности. В последние годы выявлен ряд молекулярно-генетических факторов, ассоциированных с неблагоприятным витальным прогнозом при УМ. Вместе с тем для получения ткани опухоли необходимо проведение инвазивной биопсии, что ассоциировано с рядом осложнений. Все вышеперечисленное обуславливает необходимость минимально инвазивного и недорогого способа выявления специфических мутаций у данной категории больных.

Цель исследования — анализ частоты мутаций в генах *GNAQ/GNA11* в циркулирующей опухолевой ДНК и генотипов полиморфного маркера С3435Т гена *ABCB1* на большой выборке пациентов с внутриглазными меланоцитарными новообразованиями.

Материалы и методы. В рамках открытого проспективного исследования в период 2015–2022 гг. обследовано 272 пациента с внутриглазными меланоцитарными новообразованиями. Женщины составили 68,8 % ($n = 187$), мужчины — 31,2 % ($n = 85$). Возраст пациентов общей когорты варьировал от 28 до 87 лет (в среднем $58,3 \pm 12,6$ года). Пациенты разделены на исследуемые группы в зависимости от характера опухолевого очага (меланомы хориоидеи — группа I ($n = 141$), прогрессирующие — группа II ($n = 67$) и стационарные — группа III ($n = 64$) невусы хориоидеи).

Результаты. В группе I хотя бы одна мутация в генах *GNAQ/GNA11* выявлена у 134 (95,0 %) пациентов, из них 2 мутации — у 35 (24,8 %) пациентов, 3 мутации — у 16 (11,3 %) пациентов. В группе II одна мутация выявлена у 49 (73,1 %) пациентов, из них 2 мутации — у 3 (4,5 %). В группе III одна мутация в генах *GNAQ/GNA11* выявлена у 13 (20,3 %) пациентов. При сравнении общей частоты мутаций в генах *GNAQ/GNA11*

в группах I и II получены значимые различия (ОШ 7,03 (2,77 до 17,86), $F = 0,000015$, $\xi^2 = 20,6$), при этом в группе I мутации определяли в 95 % случаев, а в группе II — в 73,1 %. Значимые различия получены и при сравнении частоты исследуемых мутаций в группах I и III (ОШ 75,1 (28,36 до 198,86), $F = 0,0000001$, $\xi^2 = 121,15$) при частоте в группе III 20,3 %. В группе II частота мутаций в генах *GNAQ/GNA11* значимо выше, чем в группе III (ОШ 10,68 (4,73 до 24,1), $F = 0,0000001$, $\xi^2 = 36,64$). Частота гетерозиготных мутаций во всех 4 экзонах в группе I значимо выше, чем в группах II и III, за исключением гена *GNAQ*₁₈₃. В группе II гетерозиготные мутации во всех 4 экзонах определяли значимо чаще, чем в группе III. Гомозиготные мутации находили только у пациентов группы I, однако, несмотря на это, значимых различий при сравнении с другими исследуемыми группами не выявлено. В группе I частота генотипа СС полиморфного маркера С3435Т гена *ABCB1* была значимо меньше по сравнению с группой II, а частота генотипа СТ — значимо больше по сравнению с группой II.

Заключение. В настоящей работе обобщен опыт молекулярно-генетических исследований у 272 пациентов с внутриглазными меланоцитарными новообразованиями. Показана прямая зависимость частоты выявления мутаций в генах от размеров и характера опухолевого очага. Полученные результаты позволяют проводить как скрининг пациентов из групп риска, так и дифференцировать больных в зависимости от размеров и характера опухолевого очага.

СОЗДАНИЕ ПАНЕЛИ СУБЛИНИЙ КЛЕТОК КАРЦИНОМЫ ЯИЧНИКА ЧЕЛОВЕКА OVCAR-8 СО СТАБИЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ МУТАНТНЫХ ВАРИАНТОВ РЕКОМБИНАНТНОГО НАТРИЙЗАВИСИМОГО ФОСФАТНОГО ТРАНСПОРТЕРА NAPI2B

В.С. Скрипова, Д.А. Фирсова, А.В. Килунов,
М.А. Попутский, Р.Г. Киямова

НИЛ «Биомаркер», Институт фундаментальной медицины
и биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский)
федеральный университет», Казань
e-mail: kiyamova@mail.ru

Ключевые слова: NaPi2b, стабильные клеточные линии, рак яичника, онкомаркеры, таргетная терапия, опухолеспецифический эпигенот

Введение. Одной из главных задач онкологии является поиск опухолеспецифических мишеней для терапии. Примером таких мишеней является мембранный гликопротеин натрийзависимый фосфатный транспортер NaPi2b, повышенный уровень экспрессии которого наблюдается в опухолях яичника и в ряде других видов опухолей. Терапевтические антитела ХМТ-1536 и ХМТ-1592, направленные против NaPi2b,

распознают эпитоп MX35 в составе большого внеклеточного домена и проходят клинические испытания для лечения РЯ и РЛ. Установлено, что распознавание эпитопа MX35 антителами зависит от дисульфидных связей в молекуле NaPi2b. Мы предполагаем, что остатки цистеина в области внеклеточного домена NaPi2b могут участвовать в образовании его опухолеспецифической конформации, при которой эпитоп MX35 становится доступным для распознавания антителами именно в опухолевых клетках.

Цель исследования – создание сублиний клеток карциномы яичника человека OVCAR-8 со стабильной экспрессией рекомбинантных вариантов транспортера NaPi2b с заменами остатков цистеина в положениях 303, 322, 328 и 340 на остатки аланина.

Материалы и методы. Для работы использовали клеточную линию карциномы яичника OVCAR-8, в которой отсутствует эндогенная экспрессия NaPi2b. Нуклеотидные последовательности, кодирующие мутантные варианты транспортера NaPi2b, клонировали в вектор pLV-CMV-H4 риго с помощью рестриктаз EcoRI и BamHI для создания лентивирусных частиц, которыми трансдуцировали клетки OVCAR-8 с последующим отбором в присутствии 1 мг/мл пурамицина. Клональные субпопуляции модифицированных клеток получали методом серийных разведений. Наличие экспрессии NaPi2b подтверждали методом вестерн-блот-анализа с помощью антител, направленных против N-концевого домена NaPi2b.

Результаты. Получено 5 сублиний клеток OVCAR-8 со стабильной экспрессией рекомбинантных вариантов транспортера NaPi2b с заменами С303А, С322А, С328А и С350А. Для каждой сублинии получено от 4 до 17 клональных субпопуляций с подтвержденной экспрессией транспортера NaPi2b. Для дальнейшей работы было отобрано минимум 2 клональных субпопуляции для каждого из вариантов транспортера NaPi2b.

Заключение. Создана панель сублиний клеток карциномы яичника OVCAR-8 с подтвержденной экспрессией мутантных вариантов транспортера NaPi2b, которые могут быть использованы для исследования механизма образования опухоли-специфической конформации внеклеточного домена транспортера NaPi2b.

Работа выполнена при поддержке

Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

СРАВНЕНИЕ ПРЕДСТАВЛЕННОСТИ МИКРОРНК В ЭКСТРАКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛАХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ

Г.О. Скрябин¹, А.В. Комельков¹, А.А. Беляева^{1,2},
А.М. Керемет², Д.М. Силантьева³, Е.М. Чевкина¹

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва;

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

³ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России,
Москва

e-mail: go.skryabin@gmail.com

Ключевые слова: экзосомы, микроРНК, экстраклеточные везикулы, рак яичника, асцитическая жидкость

Введение. Для осуществления межклеточной коммуникации эукариотические клетки секретируют экстраклеточные везикулы (ЭКВ) – частицы, окруженные билипидной мембраной и несущие в своем составе различные классы биоактивных молекул, отобранных в результате строго контролируемого процесса. Опухолевые клетки секретируют большее количество ЭКВ (в том числе экзосом), чем нормальные клетки, и такие опухолеассоциированные ЭКВ вносят существенный вклад в развитие онкологических заболеваний, в том числе РЯ. Значимую роль в этих процессах играют экзосомальные микроРНК, которые приводят к изменению экспрессии белков в клетке-реципиенте. ЭКВ обнаружены во многих биологических жидкостях, однако наиболее репрезентативными представляются те из них, которые расположены в зоне роста опухоли, с чем и связан наш выбор источников ЭКВ при РЯ – аспиратов маточной полости (МА) и асцитической жидкости (АЖ).

Цель исследования – провести анализ уровня представленности микроРНК в составе малых ЭКВ, выделенных из РЯ-ассоциированных биологических жидкостей.

Материалы и методы. Малые ЭКВ были получены методом дифференциального ультрацентрифугирования из 4 источников: МА больных РЯ и здоровых доноров, АЖ больных РЯ, а также из кондиционированной среды (КС) опухолевых клеток РЯ, полученных из асцитов и выведенных во временную культуру. Последовательности РНК, полученные из этих ЭКВ, были определены с помощью секвенирования нового поколения. Данные их транскриптома были картированы на человеческий геном версии NCBI36 (hg18), и после нормализации сумм прочтений микроРНК против общего числа прочтений в образце проводилось сравнение между группами с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты. Анализ выявил статистически достоверное отличие в соотношении микроРНК при сравнении МА и асцитов, а также МА и КС ($p < 0,05$). Уровень микроРНК в ЭКВ МА у больных РЯ и здоровых женщин при этом не отличался ($p > 0,05$) и составлял

25,7 % от малых РНК и 5,8 % от всех РНК, а в ЭКВ АЖ — 21,8 и 8,3 % соответственно. Что интересно, соотношение микроРНК в ЭКВ, полученных из КС достоверно не отличалось от ЭКВ АЖ (17,0 и 7,1 % соответственно).

Заключение. Уровень представленности микроРНК в составе ЭКВ, полученных из МА, достоверно отличается от такового в составе ЭКВ АЖ и КС. При этом асцитические ЭКВ и ЭКВ, секретируемые опухолевыми клетками, полученные из асцитов, по этому показателю схожи.

ИЗМЕНЕНИЕ СПЕКТРА И ЧАСТОТЫ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ *BRCA1*, *BRCA2* И *PALB2* В ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ПРОЦЕССЕ ХИМИОТЕРАПИИ

С.С. Сороковикова^{1,2}, М.К. Ибрагимова^{2,3},
А.А. Карчевская^{2,3}, М.М. Цыганов^{2,3}

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск;

²НИИ онкологии ФГБНУ «Томский НИМЦ РАН», Томск;

³ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск
e-mail: sonyasoroc@yandex.ru

Ключевые слова: мутации, опухоль молочной железы, химиотерапия

Введение. Дисфункция *BRCA1* препятствует восстановлению ДНК-разрывов путем гомологичной рекомбинации. Ранее наши исследования показали связь между делецией *BRCA1*, чувствительностью к препаратам платины и резистентностью к таксотеру. Поскольку *BRCA1* взаимодействует с другими белками, такими как *BRCA2* и *PALB2*, в ходе гомологичной рекомбинации, изучение вариантов генов *BRCA2* и *PALB2* и их влияния на ХТ может улучшить индивидуальное лечение.

Цель исследования — оценка соматических мутаций *BRCA1*, *BRCA2* и *PALB2* при раке молочной железы (РМЖ) и их терапевтического потенциала.

Материалы и методы. В работу включено 66 больных с люминальным В РМЖ IIA—IIIB стадии, получивших 2—8 курсов неoadъювантной ХТ (НХТ) по схеме СР (циклофосфан/цисплатин) или монотерапию таксотером. Был использован биопсийный материал опухоли до и после лечения, из которого выделяли ДНК. Оценку мутаций в опухоли проводили при помощи секвенирования на MiSeq™ Sequencing System (Illumina, США).

Результаты. После анализа *BRCA1* до и после НХТ было выявлено 25 мутаций, включая 3 патогенетически значимые. У 2 пациентов с мутацией с.4035delA наблюдалась прогрессия опухоли. У 10 больных мутации элиминировались в ходе лечения, у 80 % из них произошла полная или частичная регрессия опухоли, в то время как у 2 наблюдались прогрессирование или

стабилизация. У 4 из 16 пациентов, пролеченных таксотером и не имеющих мутаций в *BRCA1*, наблюдалась полная или частичная регрессия с эффективностью >80 %. Было выявлено 5 патогенетически значимых мутаций в гене *BRCA2*, связанных с эффективностью НХТ на уровне выраженной тенденции. У 86,4 % таких пациентов был объективный ответ на лечение в сравнении с 63,6 % у лиц без мутаций ($p = 0,08$), безметастатическая выживаемость также была выше (100 % против 72,5 %, $p = 0,05$). У 32 (48,5 %) из 66 пациентов были обнаружены делеции и амплификации гена *PALB2*. Делеции ассоциированы со 100 % безметастатической выживаемостью в сравнении с 68 % в группе с нормальной копийностью ($p = 0,04$). Исчезновение делеции с.2552delA в процессе НХТ приводило к положительному результату лечения. Найденная патогенетически значимая мутация с.1010T>C связана с прогрессированием опухоли. Мутации гена *PALB2* не влияли на безметастатическую выживаемость ($p = 0,15$).

Заключение. На сегодняшний день тема влияния соматических мутаций в генах гомологичной рекомбинации на эффективность лечения и прогноз заболевания остается малоизученной, при этом имеется огромный потенциал для проведения тестирования, ориентированного на диагностику, профилактику и персонализированный подход к лечению онкологических больных.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 22-15-00169).

ГИПЕРМЕТИЛИРОВАННЫЕ ГЕНЫ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК В ОПУХОЛЯХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ. СВЯЗЬ С КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ ПАРАМЕТРАМИ ОПУХОЛИ

Е.А. Филиппова¹, С.С. Лукина¹, А.М. Бурденный¹,
И.В. Пронина¹, А.Д. Селезнева¹, Н.А. Иванова¹,
Т.П. Казубская², В.И. Логинов¹, Э.А. Брага¹

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

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва

e-mail: p.lenyxa@yandex.ru

Ключевые слова: рак молочной железы, ген, длинная некодирующая ДНК

Введение. РМЖ отличается значительной гетерогенностью и отсутствием доказанных маркеров для диагностики и прогноза. Показано, что в патогенезе РМЖ значительную роль играют эпигенетические механизмы, такие как метилирование промоторных CpG-островков, которое участвует в регуляции экспрессии многих генов, включая гены некодирующих РНК (нкРНК).

Цель исследования — оценить вовлеченность метилирования в регуляцию экспрессии группы генов нкРНК в процессе развития и прогрессии РМЖ.

Материалы и методы. Образцы опухолей (109 парных образцов РМЖ) собраны и клинически охарактеризованы в НИИ клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ им. Н.Н. Блохина». Анализ уровней метилирования и экспрессии проводили с применением количественной метилспецифической ПЦР и количественной ПЦР-РВ. Для оценки значимости различий между исследуемыми группами применяли непараметрический критерий Манна–Уитни для независимых выборок.

Результаты. Анализ уровня метилирования группы днРНК выявил статистически значимое ($p < 0,001$) увеличение уровня метилирования для генов днРНК *MEG3*, *SEMA3B-AS1*, *HAND2-AS1*, *KCNK15-AS1*, *PLUT* и *SSTR5-AS1* в опухоли относительно парной гистологически неизменной нормы. Высокий уровень метилирования статистически значимо ассоциирован с более поздней стадией РМЖ, с увеличением размера опухоли и наличием метастазов в ЛУ для всех 6 генов днРНК. Кроме того, экспрессия днРНК *MEG3* и *HAND2-AS1* была статистически значимо ниже в образцах опухоли по сравнению с нормальной тканью молочной железы. Выявлена коэкспрессия в паре днРНК *MEG3-HAND2-AS1* ($R_s = 0,67$) при РМЖ, что позволяет предположить их участие в регуляции общих сигнальных путей канцерогенеза, в которых задействованы эти днРНК.

Заключение. Таким образом, определены гены нкРНК, вовлеченные в развитие и прогрессию РМЖ, что открывает новые представления и расширяет знания о возможных сигнальных путях канцерогенеза, в которых задействованы эти днРНК.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 22-75-00132).

АССОЦИАЦИЯ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ *MIR-203*, *MIR-129-2*, *MIR-34A* И *MIR-34B/C* С ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТЬЮ ДИФFUЗНОЙ В-КРУПНОКЛЕТОЧНОЙ ЛИМФОМЫ

М.И. Чуркина¹, Е.Н. Воропаева^{1,2}, Т.И. Поспелова²

¹ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет»

Минздрава России, Новосибирск;

²НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск

e-mail: nats.sagan@yandex.ru, vena.81@mail.ru, postatgem@mail.ru

Ключевые слова: крупноклеточная лимфома, ДНК

Введение. В настоящее время взаимосвязь между статусом метилирования генов p53-чувствительных микроРНК и иммуногистохимическими характеристиками диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДВККЛ) изучена недостаточно.

Цель исследования – оценить ассоциацию метилирования генов микроРНК *MIR-203*, *MIR-129-2*, *MIR-34A* и *MIR-34B/C* с пролиферативной активностью опухолевой клеток больных ДВККЛ.

Материалы и методы. Проанализирован 81 образец ДНК, выделенной из опухолевой ткани пациентов с ДВККЛ. Определение статуса метилирования анализируемых генов осуществляли методами метилспецифической ПЦР и метилчувствительного анализа кривых плавления высокого разрешения. Пролиферативную активность клеток оценивали при помощи моноклональных кроличьих антител к белку Ki-67 (Clone SP6, Cell Marque, США) в гистологических срезах пораженных ЛУ в соответствии с протоколом производителя. Различия в частотах признаков оценивали с помощью расчета χ -квадрат Пирсона или точного критерия Фишера (F-критерий).

Результаты. При ДВККЛ Ki-67 экспрессируется в широком диапазоне значений. Было показано, что в подгруппе с метилированным статусом генов *MIR-203*, *MIR-129 2* и *MIR-34B/C* в сравнении с подгруппой без метилирования данных генов экспрессию Ki-67 45 % опухолевых клеток и более имели 71,6 % против 42,9 % ($p = 0,01$), 70 % против 38,1 % ($p = 0,01$) и 72,5 % против 43,3 % ($p = 0,01$) образцов соответственно. В случаях с сочетанным метилированием *MIR-34B/C* и *MIR-203* уровень экспрессии Ki-67 45 % опухолевых клеток и более имел место в 3,5 раза чаще, а уровень экспрессии 70 % опухолевых клеток и более – в 1,8 раза чаще, чем в случаях с отсутствием метилирования *MIR-34B/C* и *MIR-203* (59,3 % против 15,8 %, $p < 0,001$ и 28,8 % против 15,8 %, $p = 0,02$ соответственно).

Заключение. Таким образом, сочетанное метилирование генов *MIR-34B/C* и *MIR-203* в большей степени ассоциировано с повышенной экспрессией Ki-67 опухолевыми клетками ДВККЛ. Полученные данные могут быть связаны с тем, что у кодируемых данными генами микроРНК, помимо общих мишеней (циклин-зависимых киназ CDK4 и CDK6), описан ряд непересекающихся мишеней, например STAT3 для miR-203 и SOX4 для miR-129, имеющих значение в формировании повышенного пролиферативного потенциала опухолевых клеток.

INVESTIGATION OF *P16INK4A* GENE PROMOTER METHYLATION IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER PATIENTS

V. Jurisic¹, J. Obradovic², N. Nikolic³, J. Javorac⁴, B. Perin⁴, J. Milasin³

¹University of Kragujevac, Faculty of Medical Sciences, Kragujevac, Serbia;

²University of Kragujevac, Institute of Information Technologies, Kragujevac, Department of Sciences, Kragujevac, Serbia;

³University of Belgrade, Department of Human Genetics, School of Dental Medicine, Belgrade, Serbia;

⁴Institute for Pulmonary Diseases of Vojvodina, Sremska Kamenica, Serbia
e-mail: jurisicvladimir@gmail.com

Key words: EGFR, SNPs, p16INK4a, lung cancer, methylation

Introduction. In addition to genetic factors, epigenetic phenomena have important role during lung cancerogenesis. Important and well-studied tumor suppressor gene *p16INK4a* is suggested as the potential biomarker for NSCLC diagnosis or prognosis.

The aim of this study was to examine the methylation status of p16INK4a promoter region in non small cell lung cancer (NSCLC) patients and their associations with clinical characteristics in our population in Serbia.

Methods. Formalin-fixed and paraffin-embedded (FFPE) DNA samples extracted from NSCLC patients were analyzed with methylation-specific polymerase chain reaction (PCR) method to obtain promoter methylation profile using an EZ-DNA Methylation Kit (Zymo Research, Orange, CA, USA).

Results. There were 72.7 % of patients p16INK4a methylated. There was a significant association between methylated p16INK4a in patients prior therapy ($p = 0.017$) since a significantly higher frequency of methylated p16INK4a was detected in these patients (40.9 %) in comparison to frequency in patients after therapy (31.8 %). Also, a higher frequency of methylated p16INK4a was detected among patients with leucopenia ($p = 0.056$).

Conclusion. High frequency of methylation of the *p16INK4a* gene promoter was observed in NSCLC patients prior therapy and with leucopenia that can indicate their significance related to advanced clinical stage.

Молекулярные механизмы прогрессии и метастазирования опухолей

ПОДАВЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ (ММР7, ММР9) И ПОЛИ(АДФ-РИБОЗА)-ПОЛИМЕРАЗЫ (PARP1, PARP2) ДИНИТРОЗИЛЬНЫМ КОМПЛЕКСОМ ЖЕЛЕЗА (ДОНОР ОКСИДА АЗОТА) В КЛЕТКАХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА

Н. П. Акентьева¹, Н. А. Санина^{1,2}, А. Р. Гизатуллин¹,
С. С. Шушанов³

¹ФГБУН «ФИЦ проблем химической физики и медицинской
химии РАН», Черноголовка;

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

³ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава
России, Москва
e-mail: na_aken@icp.ac.ru

Ключевые слова: динитрозильный комплекс железа, матриксная металлопротеиназа, поли(АДФ-рибоза)-полимераза, экспрессия генов

Введение. Поли (АДФ-рибоза) – полимеразы (PARP) играют важную роль в различных механизмах клеточной гибели: апоптозе, некрозе, аутофагии и партанатозе. Повышенные уровни матриксных металлопротеиназ (ММР) коррелируют с инвазивностью раковых клеток и образованием метастазов, поэтому поиск ингибиторов ММР и PARP является актуальным для разработки новых противоопухолевых препаратов антиметастатического действия.

Цель исследования – изучение влияния динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) № 7 [(Fe(SC(NHCH₃)₂)₂(NO)₂)]BF₄, мол. масса = 411,0 г/моль, 3,9 × 10⁻⁴ М] на экспрессию мРНК генов ММР7, ММР9 и изоферментов поли(АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP1 и PARP2) в клетках множественной миеломы (ММ) человека.

Материалы и методы. Клетки ММ человека (линия RPMI8226) растили до концентрации 5 × 10⁶ клеток в среде RPMI. Затем к клеткам в экспериментальном флаконе добавляли ДНКЖ № 7 (3,9 × 10⁻⁴ М), а в контрольный флакон добавляли равное количество питательной среды и инкубировали в течение 24 ч в инкубаторе при 37 °С, 5 % CO₂ и 90 % влажности. Экстракцию общей РНК из клеток проводили с помощью TRI Reagent (Sigma, США) согласно протоколу. Синтез кДНК проводили с использованием RevertAid™

Reverse Transcriptase (Fermentas) с использованием праймеров oligo dT18. Определение экспрессии мРНК генов проводили с помощью количественной ПЦР-РВ на приборе CFX 96 Touch Real-Time PCR (Bio-Rad, США). Для количественной ПЦР использовался набор реагентов фирмы Syntol (Cat#R-412, Россия). В качестве флуоресцентного красителя использовали SYBR Green (Syntol). Полученные данные были проанализированы с помощью сравнительного метода СТ, а кратность изменения была рассчитана с помощью метода 2-ΔΔСТ. Для нормализации эффективности синтеза кДНК использовали амплификацию референсного гена β-актина. Все образцы анализировали в 3 повторах и использовали средние значения экспрессии.

Результаты. Показано, что ДНКЖ № 7 подавляет экспрессию генов PARP1 на 50 %, но активирует экспрессию генов PARP2 в 4,5 раза. Исследовано влияние ДНКЖ № 7 на экспрессию генов изоферментов матриксных металлопротеиназ (ММР7, ММР9) в клетках ММ человека. Установлено, что ДНКЖ № 7 (в концентрации 3,9 × 10⁻⁴ М) подавляет экспрессию мРНК генов ММР7 ~ в 12 раз, а ММР9 – в 10 раз.

Закключение. Таким образом, полученные данные свидетельствуют в пользу того, что ДНКЖ № 7 является эффективным ингибитором PARP1, ММР7 и ММР9 и обладает противоопухолевым антиметастатическим потенциалом для лечения ММ человека.

*Работа выполнена при поддержке
в рамках государственного задания Минобрнауки
России (ГЗ № АААА-А19-119071890015-6).*

СПЕКТР СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ГЕНОВ-СУПРЕССОРОВ VHL И TP53 ПРИ МЕТАСТАТИЧЕСКОМ СВЕТЛОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ПОЧКИ И ПОДХОДЫ К ЕГО ТЕРАПИИ

А. В. Балбуцкий, А. А. Лушникова, Н. И. Поспехова,
Т. С. Лисица, С. Д. Бежанова, О. Г. Ковтун

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава
России, Москва
e-mail: white1763@yandex.ru

Ключевые слова: ген-супрессор, метастатический светлоклеточный рак, почка

Введение. Ежегодно в мире впервые диагностируют около 220 тыс. случаев рака почки (РП), 87 % из которых относят к светлоклеточному раку почки (СРП).

Понимание механизмов канцерогенеза РП способствует развитию новых подходов к терапии метастатического СРП, улучшению прогноза и качества жизни пациентов.

Цель исследования – изучение характерных для СРП изменений структуры генов-супрессоров в клеточных линиях и биопсийном материале СРП.

Материалы и методы. Две клеточные линии СРП – Рпоч1-КК и Рпоч-П получены из биопсий пациентов НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, биопсийный материал СРП ($n = 80$) верифицирован патологоанатомом. Для ПЦР-анализа опухолевой ДНК и нормальной ткани использовали праймеры к экзонам 1, 2, 3 *VHL* и к экзонам 6–10 *TP53* (ДНК клеточной линии) с последующим прямым секвенированием ампликонов, для фрагментного анализа – AATI Fragment Analyzer и набор DNF-910 dsDNA Reagent Kit 35-1500bp, для статистического анализа – программу Statistics 6.0, для ИГХ-анализа – первичные антитела к белкам NCL/NPM23, VEGFR и вторичные кроличьи антитела (Abcam).

Результаты. В клеточной линии Рпоч1-КК выявлен гомозиготный полиморфизм: R72P и делеция 125 п. н. в экзоне 1 гена *VHL*, нуклеотидная замена в экзоне 4 *TP53* и IVS6+62G/A–G. В геноме Рпоч1-КК и РпочП обнаружена замена с.742 C>T в экзоне 7 *TP53*, приводящая к замене R248W. Результаты подтверждают генетическую гетерогенность СРП. Структура и спектр изменений в гене-супрессоре *VHL* в ДНК из опухолевых биопсий и гистологически нормальной ткани изучаемых пациентов с СРП включают множество нарушений в гене *VHL*, в том числе инактивацию гена в 40 % образцов. Обнаружены различные по структуре и локализации изменения гена *VHL* с преобладанием функционально значимых мутаций в 1 экзоне (56 % всех изменений), в экзонах 2 и 3–25 % и 19 % соответственно. У большинства пациентов с распространенным СРП (85 %) обнаружен широкий спектр изменений в гене *VHL* и это создает предпосылки для развития резистентности к химиотерапии. Один из путей преодоления резистентности СРП – применение катионных пептидов, индуцирующих апоптоз различных по происхождению опухолевых клеток, в которых гиперэкспрессированы шаперонные белки NCL и NPM, а также ряд других молекулярных маркеров (VEGFR, AQP). В МТТ-тестах на 2 клеточных линиях отобрано 7 катионных пептидов с высокой избирательной активностью для клеток СРП – до 80 % гибели путем апоптоза (ядрышковый стресс) и митоптоза (инактивация P450).

Заключение. Обнаружена высокая генетическая гетерогенность опухолей СРП и предложены подходы к терапии метастатического СРП.

ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ БЕЛКОВ ПЛОТНЫХ КОНТАКТОВ В ТОЛСТОЙ КИШКЕ КРЫС ПРИ 1,2-ДИМЕТИЛГИДРАЗИН-ИНДУЦИРОВАННОМ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

В.В. Бекусова^{1,2}, Т.И. Зудова¹

¹ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, Санкт-Петербург;

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург
e-mail: v.bekusovav@spbu.ru

Ключевые слова: колоректальный рак, толстая кишка, барьерные свойства, белки плотных контактов, 1,2-диметилгидразин, крыса

Введение. Нарушение барьерных свойств толстой кишки (ТК) при раке толстой кишки (РТК) сопровождается изменением уровня белков плотных контактов, повышающих или понижающих проницаемость кишечного эпителия. Модель 1,2-диметилгидразин (ДМГ)-индуцированного канцерогенеза является наиболее адекватной моделью РТК человека, а на основании нашего предыдущего исследования (Bekusova V. et al., 2018) может также служить моделью нарушения барьерной функции ТК. Опухоли при ДМГ-индуцированном канцерогенезе у крыс возникают преимущественно в дистальном отделе ТК и гораздо более редки в ее проксимальном отделе. Мы предположили, что разная частота возникновения опухолей в ТК может быть обусловлена неодинаковым уровнем белков плотных контактов в ее разных отделах.

Цель исследования – изучение уровня белков плотных контактов в проксимальных и дистальных сегментах ТК при ДМГ-индуцированном канцерогенезе.

Материалы и методы. Методом вестерн-блота у крыс линии Вистар был исследован уровень белков плотных контактов: клаудина 1, 2, 3 и 4, окклюдина и трицеллюлина, в опухолевых и неопухолевых сегментах проксимального и дистального отделов ТК.

Результаты. В опухолях дистального отдела ТК уровень клаудина 3 и 4 был значимо выше по сравнению с опухолями ее проксимального отдела. Уровень клаудина 3 также был повышенным в прилежащих к опухолям участках дистального отдела ТК по сравнению с аналогичными участками ее проксимального отдела.

Заключение. Полученные результаты согласуются с данными нашего предыдущего исследования, в котором было показано, что у ДМГ-крыс в опухолях дистального отдела уровень клаудина 3 и 4 повышен по сравнению с контролем (Bekusova V. et al., 2021). Повышенный уровень клаудина 3 и 4 в опухолях дистального отдела ТК у ДМГ-крыс может обуславливать более высокую частоту возникновения опухолей в дистальном отделе ТК у крыс при ДМГ-индуцированном канцерогенезе.

ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ИНТЕРЛЕЙКИНЫ В ВАСКУЛОГЕННОЙ МИМИКРИИ ПРИ МЕЛАНОМЕ

А.А. Варганян

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, Москва
e-mail: zivotov57@mail.ru

Ключевые слова: интерлейкин, васкулогенная мимикрия, меланома

Введение. Уход опухоли от иммунного надзора и наличие внутриопухолевого воспаления, способствующего опухолевой прогрессии, являются основными составляющими роста злокачественной опухоли. Для компенсации недостатка питания и гипоксии опухоль инициирует дополнительную систему кровотока, васкулогенную мимикрию. Формируют васкулярные каналы в опухоли клетки, несущие характеристики стволовой клетки (stem cell-like cells).

Цель исследования — оценка вклада провоспалительных интерлейкинов в васкулогенную мимикрию при меланоме.

Материалы и методы. 2D- и 3D-культивирование клеток, тесты на миграцию «в рану», инвазию, иммуноцитохимия и проточная цитофлуориметрия были использованы в данном исследовании.

Результаты. Работа выполнена на клетках меланомы Mel Me с высокой степенью дифференцировки. Клетки получены из опухоли больной, проходившей лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. На Матригеле Mel Me клетки не формируют сосудистоподобных структур. Интерлейкин (ИЛ) 6, основной игрок острой фазы воспалительного процесса, повышал миграционную активность Mel Me клеток на $82 \pm 5\%$ по сравнению с контролем. Рост инвазивной активности клеток меланомы под действием ИЛ-6 относительно контроля не превышал $34 \pm 4\%$. Иммуноцитохимическое окрашивание клеток Mel Me на экспрессию маркеров эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) выявило, что экспрессия N-кадгерина заметно возрастала в Mel Me клетках в ответ на ИЛ-6. Высокая экспрессия виментина, маркера мезодермальной ткани, в Mel Me клетках, инкубированных с ИЛ-6, подтверждала индукцию ЭМП ИЛ-6. Далее мы показали, что в контрольных клетках экспрессия MMP-9 была ниже, чем экспрессия MMP-2 (58 ± 3 и $67 \pm 3\%$ соответственно). В присутствии ИЛ-6 экспрессия MMP-2 была сравнима с контрольными клетками, MMP-9 экспрессировали $88 \pm 4\%$ клеток. Mel Me клетки, культивированные с ИЛ-6 в течение 48 ч, формировали сосудисто-подобные структуры на Матригеле. Эффект ИЛ-1 β на миграцию и инвазию Mel Me клеток, основных составляющих формирования васкулярных каналов опухолевыми клетками, был более выраженным по сравнению с ИЛ-6.

Заключение. Полученные нами результаты согласуются с данными литературы о способности провос-

палительных интерлейкинов индуцировать дедифференцировку опухолевой клетки и позволяют поднять вопрос о более детальном исследовании ИЛ-6 как потенциальной мишени для терапии высокозлокачественных меланом.

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА СУБЛИНИИ КЛЕТОК ОСТЕОСАРКОМЫ U2OS С ПРИЗНАКАМИ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ДОКСОРУБИЦИНУ

А.Р. Галембикова¹, С.В. Бойчук^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань;

²ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Казань
e-mail: ailuk000@mail.ru

Ключевые слова: остеосаркома, резистентность, вторичная лекарственная устойчивость

Введение. Остеосаркома (ОС) представляет собой первичную злокачественную опухоль костной ткани, характеризующуюся агрессивным течением, склонностью к ранним метастазам и неуклонным развитием вторичной лекарственной устойчивости (ВЛУ) к химиопрепаратам, применяемым в настоящее время. Поэтому изучение механизмов ВЛУ для поиска методов ее преодоления является актуальной научно-практической задачей современной онкологии.

Цель исследования — изучение механизмов ВЛУ сублинии ОС к ингибитору ДНК-топоизомеразы II типа — доксорубину (Dox).

Материалы и методы. Для получения сублинии клеток ОС, резистентной к Dox (U2OS Dox-R), была использована клеточная линия U2OS (ATCC, США), культивируемая в присутствии постепенно увеличивающихся концентраций Dox (с 0,01 до 0,4 мкМ) в течение 12 мес. Культивирование клеток проводилось в стандартных условиях (37 °С, 5 % CO₂) в культуральной среде ДМЕМ («ПанЭко», Россия) с добавлением эмбриональной телячьей сыворотки (HyClone, США), L-глутамин («ПанЭко», Россия) и антибиотиков («ПанЭко», Россия). Цитотоксичность Dox (Sigma Aldrich, США) определяли колориметрическим MTS-методом. Экспрессию белков и мРНК ABC-транспортеров и некоторых белков, участвующих в репарации повреждений ДНК, определяли методом иммуноблоттинга и ПЦР соответственно.

Результаты. Было выявлено 2-кратное увеличение значений половинной ингибирующей концентрации (IC₅₀) для Dox у клеток U2OS Dox-R по сравнению с клетками U2OS. Механизм развития лекарственной устойчивости к Dox у данной клеточной линии был связан с гиперэкспрессией MDR1 как на транскрипционном, так и посттрансляционном уровнях, что обеспечивает, как известно, выброс химиопрепаратов

из опухолевых клеток. Кроме этого, у резистентной сублинии ОС было обнаружено повышение экспрессии белка и мРНК DNA-PK в ответ на воздействие Dox по сравнению с наивными клетками. DNA-PK, как известно, обеспечивает репарацию двунитевых разрывов ДНК путем негомологичного связывания концов, что также могло обуславливать устойчивость опухолевых клеток к ингибиторам ДНК-топоизомеразы II типа, в том числе к Dox.

Заключение. Получена и охарактеризована сублиния клеток U2OS Dox-R, обладающая признаками резистентности к Dox. Устойчивость U2OS Dox-R к Dox является результатом комплексных событий, направленных как на усиление их выброса из опухолевых клеток, так и активации процессов репарации двунитевых разрывов ДНК, вызываемых ингибиторами ДНК-топоизомеразы II типа.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 20-15-00001).

РОЛЬ ЭНТОЗА В РОСТЕ И ПРОГРЕССИРОВАНИИ ОПУХОЛИ

К.А. Гаптулбарова¹⁻³, Д.С. Долгашева^{1,2}, И.А. Цыденова^{1,2},
Е.А. Кравцова^{1,2}, Н.В. Литвяков¹⁻³

¹НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН, Томск;

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

³ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет»

Минздрава России, Томск

e-mail: xenia.gaptulbarova@yandex.ru

Ключевые слова: энтоз, опухоль, резистентность

Введение. На сегодняшний день одним из главных препятствий в лечении рака является прогрессирование опухоли после ХТ и радиотерапии, механизмы которого до сих пор выясняются научным сообществом. Такие структуры, как “cell-in-cell”, наблюдались в образцах ЗНО уже более века. Одним из способов образования “cell-in-cell” служит механизм под названием энтоз. Термин «энтоз» был впервые предложен Overholtzer в 2007 г. как новый тип в ряду других форм гибели клеток. Сам энтоз представляет собой процесс, при котором живые и жизнеспособные клетки интернализируются в соседние клетки того же типа, с вовлечением молекул адгезии, формируя те самые структуры “cell-in-cell”. Одним из важных триггеров энтоза между опухолевыми клетками является ХТ. Многие виды опухолей подвергаются химиотерапевтическому лечению, в том числе оказывающему влияние на клеточный митоз. Сейчас интерес исследователей к “cell-in-cell” стремительно растет. Предполагается, что энтозические события могут быть новым ключевым фактором, регулирующим выживание и гибель клеток. В связи с этим феномен энтоза может быть использован для прогнозирования исхода заболевания и в качестве прогностического маркера при диагностике.

Цель исследования – исследование механизмов прогрессирования опухолей и формирования резистентности ЗНО.

Материалы и методы. Собран банк биологического материала больных РМЖ, РЛ и КРР. Составлен подробный регистр данных для всех больных по каждой локализации.

У пациентов с диагнозом РМЖ, РЛ и КРР проводился микроматричный анализ для оценки CNA-генетического ландшафта опухоли. Для активации транскрипции гена *MYC* в культуре BT549 сконструированы sgRNAs для нацеливания на область оснований выше сайта начала транскрипции гена *MYC* (TSS). Для нокаута гена *MYC* и создания геномно-модифицированной клеточной линии MDA231 использованы рекомбинантные плазмиды pX458D10A At2, Ab4, Gt3, Gb4, Pt3, Pb2, кодирующие nCas9 и направляющие РНК к гену *MYC* *Holomonitor*. Работа на холомониторе проводилась с использованием протоколов, заявленных производителем. Статистическая обработка данных проведена с использованием пакетов прикладных программ Statistica (StatSoft Inc., США) и SPSS.

Результаты. По данным из нашей базы, коэффициент корреляции Ki-67 и количество амплификаций генов стволовости в опухоли РМЖ до лечения составляет 0,41 ($p = 0,01$). В группе больных РМЖ с delCDC42 количество метастатических клонов составляет 2,94 против 2,09 в группе $n+gain$ CDC42 ($p = 0,017$). Также в группе с delCDC42 частота опухолей с двумя и более амплификациями генов стволовости составляет 78 % (28/36), против группы $n+gain$ CDC42 – 58 % (63/108) ($p = 0,045$).

Заключение. Энтоз представляет собой интересное явление, которое требует широкого изучения и в клиническом и экспериментальном плане. Полученные данные могут дать ключ к пониманию механизмов прогрессирования опухолей, формирования резистентности, и будут способствовать развитию новых терапевтических стратегий.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России (грант № 075-15-2021-1073).

ВЗАИМОСВЯЗЬ ЭКСПРЕССИИ ГЛЮКОКОРТИКОИДНОГО РЕЦЕПТОРА С УСТОЙЧИВОСТЬЮ КЛЕТОК ГЛИОБЛАСТОМЫ К ТЕМОЗОЛОМИДУ

Э.В. Григорьева^{1,2}, С.А. Никитина¹, Д.К. Соколов¹,
А.Ю. Цидулко¹, А.В. Стротова¹, А.М. Волков³,
Г.М. Казанская¹, Е. Фаслер-Кан⁴

¹НИИ молекулярной биологии и биофизики ФГБНУ «ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск;

²ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск;

³ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России, Новосибирск;

⁴Университет Берна, Берн, Швейцария
e-mail: elv_grig@mail.ru

Ключевые слова: глиобластома, темозоломид, глюкокортикоидный рецептор

Введение. Гетерогенность клеток ГБ и развитие их устойчивости к основному химиотерапевтическому препарату темозоломиду (ТМЗ) является одной из причин недостаточной эффективности проводимой терапии. Однако глюкокортикоиды, применяемые во время терапии для снятия отеков, также могут вносить свой вклад в этот процесс, хотя этот вопрос остается недостаточно изученным. Вероятно, их участие в развитии устойчивости к ТМЗ реализуется через глюкокортикоидный рецептор (GR).

Цель исследования — изучение возможной вовлеченности GR в развитие химиорезистентности клеток ГБ к ТМЗ.

Материалы и методы. Семь клеточных линий ГБ (U343, LN215, HS683, U87, LN71, LN405, LN18) были охарактеризованы по различным молекулярным и функциональным параметрам, определена их устойчивость к ТМЗ и уровень экспрессии GR (ОТ-ПЦР, дот-блот, ИГХ-исследование). Содержание GR в клинических образцах ГБ ($n = 42$) определяли ИГХ-методом.

Результаты. Хотя все клеточные линии ГБ обладали схожей пролиферативной активностью, они значительно различались по миграционной активности и устойчивости к ТМЗ (IC₅₀ 8.51–369.59 мкМ в порядке U343, LN215, HS683, U87, LN71, LN405, LN18), а также экспрессии протеогликанов и содержанию углеводных молекул гликозаминогликанов. Уровень экспрессии GR в исследованных клеточных линиях различался в 1,5–8 раз и отрицательно коррелировал с устойчивостью клеток ГБ к ТМЗ ($r = -0,81$). Содержание белковой молекулы GR в клинических образцах ГБ было ассоциировано с продолжительностью жизни пациентов.

Заключение. Высокий уровень экспрессии глюкокортикоидного рецептора в ГБ ассоциирован с чувствительностью опухолевых клеток к темозоломиду и более благоприятным прогнозом течения заболевания, что позволяет предложить его в качестве потенциального молекулярного маркера устойчивости ГБ к темозоломиду.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 21-15-00285).

МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ПРИБРЕТЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К ОБЛУЧЕНИЮ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ *IN VITRO* КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

М. В. Гудкова¹, Д. В. Сорокин^{1,2}, Ф. Б. Богданов^{1,3},
А. М. Щербаков^{1,2}, В. Е. Разуваева¹, О. Е. Андреева¹,
М. А. Красильников^{1,2}

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

²ФГАОУ ВО «Нижегородский государственный университет
им. Н. И. Лобачевского», Нижний Новгород;

³Факультет фундаментальной медицины ФГБОУ ВО
«МГУ им. М. В. Ломоносова», Москва
e-mail: gudkova@ronc.ru

Ключевые слова: рак молочной железы, клетка, облучение

Введение. На сегодняшний день достаточно хорошо изучен механизм противоопухолевого действия как радиационного, так и ультрафиолетового (УФ) облучения, основанного прежде всего на индукции повреждений ДНК и стимуляции программированной клеточной гибели. В то же время эффективность противоопухолевой радиотерапии во многом ограничена резистентностью опухолевых клеток к облучению, развивающейся в процессе повторяющихся циклов терапии и сопровождающейся существенной реаранжировкой клеточного сигналинга.

Цель исследования — изучение ключевых характеристик клеток РМЖ с приобретенной устойчивостью к облучению.

Материалы и методы. Эксперименты проводились на клетках эстрогензависимого РМЖ линии MCF-7. В качестве модели ДНК-повреждающего облучения использовалось УФ-облучение с длиной волны 254 нм и интенсивностью 25 или 50 Дж/м². Для отбора УФ-резистентных клеток клетки MCF-7 подвергали воздействию УФ 1 раз в неделю в течение 12 нед с последующим поддержанием роста клеток в течение не менее 40 дней после последнего раунда облучения.

Результаты. Показано, что однократное облучение клеток MCF-7 приводит к активации апоптотического сигналинга, в том числе фосфорилированию p53 и расщеплению *PARP*, подавлению эстрогенового сигналинга и снижению экспрессии циклин-зависимых киназ 4 и 6 на фоне активации PI3K/Akt и Snail каскадов. Полученная в результате хронического облучения УФ-резистентная сублиния характеризовалась необратимым снижением активности эстрогенового сигналинга, конститутивной гиперэкспрессией Snail и активацией PI3K/Akt сигналинга.

Заключение. В целом полученные результаты свидетельствуют о формировании в результате хронического облучения пула резистентных клеток, отличающегося гиперактивацией сигнальных путей, контролируемых ключевыми свойствами опухолевых клеток: рост (PI3K/Akt

каскад) и миграцию (Snail). Дальнейшие исследования позволят установить возможность использования указанных маркеров для оценки степени радиорезистентности ЗНО и использования в качестве предикторов ответа опухолей на облучение.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 22-25-00368, <https://rscf.ru/project/22-25-00368/>).

ЛИЗИН-СПЕЦИФИЧЕСКАЯ МЕТИЛТРАНСФЕРАЗА SET7/9 КАК РЕГУЛЯТОР ОНКОАССОЦИИРОВАННЫХ КЛЕТОЧНЫХ ПРОЦЕССОВ

А.А. Дакс¹, О.Ю. Шувалов¹, С.Е. Парфеньев¹,
А.В. Пегухов², Е.А. Васильева³, О.А. Федорова^{1,4},
Л.Е. Лезина², Н.А. Барлев^{1,2}

¹ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург;

²Университет Назарбаева, Астана, Республика Казахстан;

³Детская больница Лос-Анджелеса, Университет Южной Калифорнии, Ирвайн, США;

⁴Институт им. Вайцмана, Реховот, Израиль
e-mail: alexandra.daks@gmail.com

Ключевые слова: лизин-специфическая метилтрансфераза, клеточный процесс, метилирование белков

Введение. Метилирование белков является одной из основных посттрансляционных модификаций, а критическая важность профиля метилирования протеома для функционирования клетки была подтверждена в последние годы благодаря значительному прогрессу в области эпигенетических исследований. Так, присоединение метильных групп к гистонам является одной из ключевых модификаций, составляющих эпигенетический гистоновый код, а метилирование негистоновых белков влияет на множество процессов в клетке, включая транскрипцию, процессинг РНК, трансляцию, ответ на генотоксический стресс и репарацию ДНК. За последние годы интерес к метилтрансферазам возрос в контексте их важной роли в процессах онкогенной трансформации клеток, прогрессирования опухолевого роста, метастазирования и формирования лекарственной устойчивости неопластических клеток. Действительно, ряд низкомолекулярных ингибиторов белковых метилтрансфераз (например, ингибиторов EZH2, PRMT1/5, DOT1L) являются потенциально эффективными при лечении опухолей и находятся в настоящее время на различных стадиях клинических испытаний.

Цель исследования — изучение онкоассоциированных функций лизин-специфической метилтрансферазы человека Set7/9, обладающей способностью метилировать как гистоновые, так и негистоновые мишени.

Материалы и методы. Нокаут метилтрансферазы Set7/9 осуществлялся с помощью системы геномного редактирования CRISPR/Cas9. Определение уровня мРНК проводили методом микрочипов с помощью

количественной ОТ-ПЦР в реальном времени. Для определения уровня белков использовали метод вестерн-блот анализа. Скорость пролиферации оценивали методом измерения клеточного индекса с помощью клеточного анализатора xCelligence. С помощью проточной цитофлуориметрии осуществляли определение потенциала внутренней мембраны митохондрий. Для энергетического профилирования клеток использовалась платформа Seahorse.

Результаты. В нашей работе мы исследовали онкоассоциированные функции лизин-специфической метилтрансферазы человека Set7/9, обладающей способностью метилировать как гистоновые, так и негистоновые мишени. Ранее показано, что Set7/9 модифицирует метильными остатками гистоны H1, H2A, H2B и H3, а также негистоновые белки p53, pRb, E2F1, β-катенин, FOXO3 и др. Учитывая разнообразие мишеней Set7/9 и их роли в клеточных процессах, ассоциированных с канцерогенезом, мы предположили, что белок Set7/9 способен влиять на эти процессы, в т. ч. образование и прогрессирование опухолей различного генеза, метастазирование и формирование резистентности, а уровень экспрессии Set7/9 в опухолях может являться маркером для прогнозирования течения онкологических заболеваний и ответа на терапию.

Заключение. В результате проведенных исследований мы показали, что Set7/9 подавляет пролиферацию, метаболическую активность и способность к миграции клеток РМЖ и рака легкого человека. Мы продемонстрировали, что данный эффект достигается за счет Set7/9-опосредованного подавления экспрессии онкогена *c-MYC*, являющегося одним из ключевых регуляторов углеводного метаболизма. Кроме того, согласно нашим данным, подавление Set7/9 приводит к активации эксцизионной репарации в клетках РМЖ, что способствует приобретению раковыми клетками устойчивости к генотоксической противоопухолевой терапии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 19-75-10059).

МУТАЦИИ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ PI3K/АКТ РЕГУЛИРУЮТ МИГРАЦИЮ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А. Даюб¹⁻³, А.И. Фокин², С. Леонов³, А.М. Готро²,
А.Ю. Александрова¹

¹НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва;

²Политехническая школа, Париж, Палезо, Франция;

³ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (Национальный исследовательский университет)»,

Долгопрудный

e-mail: ali7r7dayoub@gmail.com

Ключевые слова: миграция клеток, мутация, сигнальный путь

Введение. Развитие РМЖ связано с наличием драйверных мутаций, но влияют ли они на миграцию опухолевых клеток, не известно. Мы исследовали влияние наиболее распространенных онкогенных мутаций РМЖ (PIK3CA H1047R⁺; PIK3CA E545K⁺; PTEN^{-/-}; AKT1 E17R⁺) на миграцию клеток МЖ MCF10A.

Цель исследования — изучение влияния этих мутаций на миграцию клеток МЖ и анализ сигнальных путей, вовлеченных в эту регуляцию.

Материалы и методы. Миграцию клеток исследовали с помощью видеомикроскопии, анализ видеопленок выполнен методом Particle Image Velocimetry. Для характеристики ЭМП оценивали изменения межклеточных контактов (конфокальная микроскопия) и экспрессию белков-маркеров ЭМП (вестерн-блоттинг). Активацию ERK при миграции оценивали с помощью сенсора ERK-KTR.

Результаты

1. Исследованные мутации приводят к проявлению ЭМП разной степени. Сильнее всего стимулируют миграцию клеток мутации PTEN^{-/-} и H1047R⁺, при этом PTEN^{-/-} вызывает неполный ЭМП и стимулирует скоординированную коллективную миграцию клеток, тогда как клетки H1047R⁺ демонстрируют более полный ЭМП и относительно мало скоординированную миграцию. Мутации E545K⁺ и E17R⁺ практически не активируют миграцию, хотя в клетках E545K⁺ маркеры ЭМП повышены.
2. Ингибитор PI3K не отменял усиление миграции у клеток PIK3CA⁺ и PTEN^{-/-}, а ингибитор киназы MEK останавливал эту миграцию. Это означает, что мутации PTEN^{-/-} и PIK3CA⁺ усиливают миграцию независимо от пути PI3K/AKT за счет пути MAPK/ERK.
3. Анализ динамики ERK в живых клетках показал, что в контроле уровень активности ERK низкий, но при движении монослоя наблюдаются волны активности от лидирующих клеток вглубь монослоя и клетки медленно ползут. Онкогенные мутации (PTEN^{-/-}, H1047R⁺ и E545K⁺) повышают уровень фосфо-ERK (больше всего PTEN^{-/-}) При этом у клеток H1047R⁺ постоянно активировался ERK в лидирующих клетках, а в клетках-последователях наблюдается волнообразная флуктуация активности ERK при движении монослоя. В клетках E545K⁺ (слабо мигрирующих) ERK постоянно активен во всем монослое и колебаний активности не наблюдалась.

Заключение. Для обеспечения эффективной коллективной миграции имеет значение не только степень ЭМП и уровень активации ERK, но и то, как клетки взаимодействуют друг с другом, при этом активность ERK волнообразно распространяется на соседние клетки. Выявление молекулярных путей, вовлеченных в регуляцию миграции при известных мутациях, может

оказаться полезным при индивидуальном подборе агентов, останавливающих метастазирование.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 22-25-00571).

ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННАЯ КЛЕТОЧНАЯ ЛИНИЯ BT549_Myc9 С ГИПЕРЭКСПРЕССИЕЙ ГЕНА MYC

Д.С. Долгашева¹, Е.А. Кравцова¹, К.В. Невская², А.Г. Першина², И.А. Цыденова¹, М.К. Ибрагимова¹, К.А. Гаптулбарова¹, Н.В. Литвяков¹

¹НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН, Томск;

²Центр биологических исследований и биоинженерии ЦНИЛ ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск
e-mail: normikus.18.97@gmail.com

Ключевые слова: гиперэкспрессия гена, клеточная линия, мышь

Введение. Ранее мы показали, что клеточные линии, несущие ампликации 2 и более генов стволовости, способны дедифференцироваться с образованием маммосфер. Клеточная линия BT549 имеет амплификацию лишь одного гена стволовости — *KLF5* и неспособна к дедифференцировке. С помощью метода CRISPER/Cas9 SAM-активации была получена генетически модифицированная клеточная линия BT549_Myc9 с повышенной экспрессией гена *MYC*. Согласно нашей гипотезе, ген *MYC* играет ключевую роль в пластичности опухолевых клеток, а именно, активация *MYC* помогает опухолевым клеткам сохранять свою пластичность и способность к дедифференцировке.

Цель исследования — оценка способности клеток BT-549_Myc9 с SAM-активированной экспрессией гена *MYC* к дедифференцировке и образованию маммосфер.

Материалы и методы. Клеточные линии BT-549 и 293T выращивали в стандартных условиях в полной среде DMEM/F12, дополненной 10 % FBS, 1 % GlutaMax. Для создания клонов клеток BT-549 с повышенной экспрессией *MYC* использовали систему Synergistic Activation Mediator (SAM) на основе CRISPR.

Результаты. Была получена генетически модифицированная клеточная линия BT-549_Myc9, имеющая уровень экспрессии гена *MYC* в 3 и более раза выше, чем в клетках дикого типа. Активация *MYC* привела к увеличению скорости пролиферации клеток в 1,2 раза — время удвоения сократилось с 2,3 дня для BT-549 дикого типа и до 2 дней для клеточной линии BT-549_Myc9. Установлено, что клетки дикого типа BT-549 преимущественно являются прогениторными (CD44⁺CD24⁺) (93,5 ± 4,1 %). После SAM-активации гена *MYC* доля клеток CD44⁺CD24⁺ снизилась до 74,2 ± 7,2 %, тогда как доля стволовых опухолевых клеток CD44⁺CD24⁻, увеличилась от 2,7 ± 1,9 % до 25,8 ± 7,3 %. Анализ

способности клеток BT-549_Myc9 инициировать вторичный рост опухоли показал тенденцию к увеличению образования маммосфер при стимуляции ИЛ-6. Клетки CD44⁺CD24⁺, отсортированные из линии BT-549_Myc9, образуют больше маммосфер по сравнению с клетками, полученными из BT-549 дикого типа. Повышенная способность образовывать маммосферы наблюдалась даже без добавления ИЛ-6. Стимуляция ИЛ-6 приводит к образованию маммосфер большего диаметра клетками BT-549_Myc9, но не оказывает влияния на маммосферы клеток дикого типа BT-549. Отмечено, что маммосферы BT-549_Myc9 демонстрируют тенденцию к агрегации независимо от добавления ИЛ-6, что может быть связано с ключевой ролью *c-MYC* в клеточной адгезии. Эксперимент на животных установил, что клетки BT-549_Myc9 могут индуцировать рост опухоли у мышей с иммунодефицитом и показал увеличение скорости роста опухоли по сравнению с родительскими клетками BT-549.

Заключение. Таким образом, сверхэкспрессия *MYC* в клетках опухоли молочной железы связана с увеличением субпопуляции опухолевых стволовых клеток. Это способствует маммосферообразованию и росту опухоли, что подтвердило нашу гипотезу.

*Работа выполнена при поддержке
Минобрнауки России
(соглашение от 29.09.2021 № 075-15-2021-1073).*

СЕНЕСЦЕНТНО-ПОДОБНЫЕ СОСТОЯНИЯ И ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ КЛЕТОК КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА НА ФОНЕ ДЛИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ

И.Н. Дружкова^{1,2}, Н.И. Игнатова¹, М.М. Лукина³,
Д.С. Кузнецова^{1,2}, Д.С. Козлов^{1,2}, М.В. Ширманова¹

¹ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Нижний Новгород;

²ФГАОУ ВО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород;

³ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России, Москва
e-mail: ignatova_n@pimunn.net

Ключевые слова: колоректальный рак, терапия, лекарственная устойчивость

Цель исследования — исследование метаболических изменений при развитии лекарственной устойчивости у клеток КРР, установление роли мутационного статуса гена *TP53* в развитии сенесцентно-подобного состояния.

Материалы и методы. Работа проводилась на клеточных линиях КРР человека HT29 и HCT116. В работе использованы препараты оксалиплатин и 5-фторурацил. Устойчивые линии получали путем длительного культивирования клеток при постоянно повышающейся концентрации препаратов, выживаемость клеток оценивали с помощью МТТ-теста. Метаболический статус оценивали с помощью флуоресцентного время-разре-

шенного имиджинга (FLIM) метаболических кофакторов НАДН и ФАД. Специфические маркеры сенесценса оценивали с помощью анализа β-галактозидазной активности и иммуноцитологического анализа.

Результаты. Были получены клетки КРР, устойчивые либо к препарату оксалиплатин, либо к препарату 5-фторурацил из клеток HT29 и HCT116, исходно отличающихся по мутационному статусу гена *TP53*. При этом было показано развитие сенесцентно-подобного состояния у 3 из 4 полученных линий. У линии HT29, характеризующейся наличием мутации R273H в гене *TP53*, сенесцентно-подобное состояние возникало при развитии устойчивости к обоим исследуемым препаратом. В то время как у клеток HCT116, имеющих дикий тип *TP53*, сенесцентно-подобные состояния возникали только при развитии устойчивости к препарату оксалиплатин. Последующий анализ последовательности гена *TP53* методом секвенирования по Сенгеру выявил его нарушения. Метаболический анализ показал значимое смещение метаболической активности в сторону гликолиза у клеток HCT116 при развитии устойчивости к препарату оксалиплатин, что может быть связано с повреждением гена *TP53*. Так, в недавних исследованиях были показаны метаболические изменения в сторону гликолиза, ассоциированные с мутациями *TP53*.

Заключение. Показана роль мутации гена *TP53* в развитии сенесцентно-подобных состояний, лекарственной устойчивости и метаболических изменениях клеток КРР на фоне длительной терапии химиопрепаратами в малых дозах.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ
(грант № 23-15-00294).*

ИССЛЕДОВАНИЕ СВЯЗИ ЭКСПРЕССИИ ИЗОФОРМ АДЕНОЗИНКИНАЗЫ С CD39 И CD73 У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

Г.А. Жулай¹, М.И. Шибяев²

¹Институт биологии — обособленное подразделение ФГБУН
ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск;

²ГУБЗ «Республиканская больница им. В.А. Баранова»,
Петрозаводск

e-mail: zhgali-111@yandex.ru

Ключевые слова: колоректальный рак, CD39, CD73, аденозинкиназа, Т-клетки

Введение. Опухолевые клетки способны создавать богатую аденозином (ADO) иммуносупрессорную среду, что может препятствовать успешной противоопухолевой иммунотерапии. В настоящее время активно изучаются эктонуклеотидазы CD39 и CD73, участвующие в генерации внеклеточного ADO. В катаболизме ADO участвует также фермент аденозинкиназа (ADK), фосфорилируя его до аденозинмонофосфата. ADK имеет две изоформы: длинную ядерную изоформу (ADK-L), предположительно связанную с регуляцией

процесса метилирования, и короткую цитоплазматическую изоформу (ADK-S), контролирующую метаболические пути ADO. Связь ADK с иммунной системой при раке изучена слабо.

Цель исследования — исследование уровня мРНК изоформ ADK-L, ADK-S и их связь с содержанием периферических CD39⁺/CD73⁺ Т-лимфоцитов, а также связь с уровнем мРНК генов CD39, CD73 и A2AR (аденозиновый рецептор) у больных КРР в крови и опухоли.

Материалы и методы. Обследован 31 образец крови и 13 парных образцов опухолевой и нормальной ткани больных аденокарциномой ТК в основном (91 %) умеренной степени дифференцировки в возрасте 65 ± 12,4 года. Группу контроля составили 20 здоровых доноров, сопоставимых по возрасту. Основными методами служили ПЦР в режиме реального времени и проточная цитометрия. Статистическую обработку проводили с использованием GraphPad Prism v. 7.

Результаты. Показано, что локально уровень мРНК ADK-L и ADK-S не отличается в опухолевой и нормальной тканях. Тогда как по сравнению с кровью больных КРР уровень мРНК ADK-S был ниже ($p = 0,021$), а ADK-L — выше ($p = 0,007$). Кроме того, уровень мРНК ADK-L в группе больных с III–IV стадиями КРР, по сравнению с группой здоровых лиц, был ниже. В опухолевой ткани выявлена достоверная связь между уровнем мРНК ADK-L и мРНК CD73 ($r = 0,659$, $p = 0,017$). В крови больных обнаружены достоверные корреляционные связи между уровнем экспрессии генов эктонуклеотидаз CD39/CD73 и изоформ ADK. В связи с этим была проанализирована связь содержания CD8⁺, CD4⁺ и Treg-клеток, экспрессирующих на своей поверхности CD39/CD73, с уровнем мРНК изоформ ADK. Однако достоверных связей не выявлено.

Заключение. В работе впервые проанализирован уровень изоформ ADK у больных КРР. Выявлена связь экспрессии ADK-L и CD73 в крови и в опухолевой ткани больных КРР. Связи уровня мРНК изоформ ADK с содержанием CD39⁺/CD73⁺ Т-клетками (CD4⁺, CD8⁺, Tregs) в крови больных КРР не обнаружено. Предполагается дальнейшее исследование связи с другими типами клеток, экспрессирующих CD39/CD73.

ИНГИБИРОВАНИЕ ВЫХОДА КЛЕТОК НСТ116 ИЗ СТАДИИ ИНДУЦИРОВАННОГО ДОКСОРУБИЦИНОМ КЛЕТОЧНОГО СТАРЕНИЯ ЗА СЧЕТ УВЕЛИЧЕНИЯ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ НИЗКОЙ ДОЗОЙ ПРЕПАРАТА

М.А. Замкова^{1,2}, Н.А. Персиянцева¹, В.В. Татарский¹

¹ФГБУН «Институт биологии гена РАН», Москва;

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

e-mail: zamkovam@gmail.com

Ключевые слова: старение, химиотерапия

Введение. В результате применения низких доз терапии в опухолевых клетках формируется фенотип клеточного старения. Однако отдельные клетки способны «преодолеть» эту стадию и вернуться к повторной пролиферации, образуя рецидив опухоли, что является неблагоприятным последствием для организма. Исследования, направленные на ингибирование этого процесса, помогут значительно повысить эффективность противоопухолевой терапии.

Цель исследования — определение влияния продолжительности воздействия доксорубина (DOX) на развитие в клетках КРР НСТ116 фенотипа клеточного старения и на способность отдельных клеток к выходу из этой стадии и возврату к повторному делению.

Материалы и методы. Использовались следующие методы: окраска клеток на определение активности β-галактозидазы (ИГХ-метод и проточная цитометрия), анализ распределения клеток по фазам клеточного цикла, вестерн-блоттинг, анализ колониеобразующей способности клеток (окраска кристаллическим фиолетовым).

Результаты. Клетки НСТ116 обрабатывали 200 нМ DOX в течение 24 ч (короткая инкубация) и 72 ч (длительная инкубация). Мы показали, что в обоих случаях в клетках развивается фенотип клеточного старения, что согласуется с данными литературы. Наличие данной стадии было подтверждено с помощью анализа общепринятых маркеров: повышение активности β-галактозидазы (SA-β-Gal и C12FDG), увеличение уровня белков p21, фосфо-p53 и фосфо-γH2AX, остановка клеточного цикла на стадии G2/M и формирование полиплоидов. Анализ клеток на вышеуказанные маркеры фенотипа старения был проведен в нескольких временных точках: через 24 ч от начала воздействия препаратом, через 72 ч и через 5 дней. При этом различия между короткой инкубацией и длительной мы не обнаружили — в обоих случаях фенотип старения сохранялся вплоть до 5-го дня с начала обработки. Известно, что многие опухолевые клетки способны вернуться к повторной пролиферации (выйти из стадии старения) после воздействия препаратами. Для определения влияния длительности инкубации клеток с DOX на их возврат к повторному делению мы оценили колониеобразующую способность НСТ116, подвергнутых короткому и длительному воздействию препарата. Было обнаружено отсутствие колоний клеток (или единичные колонии) при 72 ч инкубации с DOX, тогда как при 24 ч воздействии формировалось большое число колоний.

Заключение. Мы показали, что продолжительность инкубации клеток НСТ116 с DOX не влияет на становление в них фенотипа клеточного старения, однако значительно ингибирует способность «старяющихся» клеток к возврату к повторной пролиферации. Данный результат указывает на значимость длительности воздействия химиопрепаратами на опухолевые клетки для достижения максимального

эффекта терапии, в частности отсутствия рецидива опухоли.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 22-24-00212).

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ PD-L1 В ТКАНИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е.Ю. Зубарева^{1,2}, М.А. Сеньчукова^{1,2}, Д.А. Шубин¹,
А.Б. Прокофьев²

¹ГБУЗ «Оренбургский областной клинический онкологический диспансер», Оренбург;

²ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России, Оренбург
e-mail: tishkova_evgeniy@mail.ru

Ключевые слова: рак молочной железы, экспрессия

Введение. В настоящее время особенности распределения PD-L1 в ткани РМЖ в контексте микроархитектоники опухоли, а именно в перитуморальных микрососудах и изолированных кластерах опухолевых клеток, а также особенности внутриклеточного распределения маркера изучены недостаточно.

Цель исследования – изучить особенности экспрессии PD-L1 в ткани РМЖ и установить их корреляции с клинико-морфологическими характеристиками РМЖ.

Материалы и методы. В исследование включено 158 пациенток с впервые выявленным инвазивным РМЖ. Экспрессию PD-L1 изучали ИГХ-методом в образцах опухоли, полученных при трепанобиопсии. Статистическую обработку результатов выполняли с использованием программы Statistica 12.0.

Результаты. Установлены следующие особенности экспрессии PD-L1 в ткани РМЖ: в 75 (47,5 %) образцах – наличие цитоплазматической экспрессии PD-L1 в изолированных кластерах опухолевых клеток; в 54 (34,2 %) образцах – цитоплазматическая экспрессия маркера в перитуморальных микрососудах; в 56 (35,4 %) образцах – ядерная экспрессия PD-L1 в клетках стромы. Экспрессия маркера в изолированных кластерах опухолевых клеток наблюдалась в 28,0 и 52,5 % случаев соответственно при узловой и диффузной формах РМЖ ($p = 0,005$); в 25,9; 39,3 и 66,7 % случаев соответственно при I–IIb, IIIa–IIIc и IV стадиях ($p = 0,011$); в 30,3; 26,2; 40,0 и 52,5 % случаев соответственно при T1, T2, T3 и T4 ($p = 0,040$); в 28,2 и 45,5 % случаев соответственно при N0–1 и N2–3 ($p = 0,030$). Экспрессия PD-L1 в перитуморальных микрососудах встречалась в 41,4 и 61,7 % случаев соответственно при T1–2 и T3–4 ($p = 0,020$) и в 39,8 и 51,7 % случаев соответственно при N0–1 и N2–3 ($p = 0,008$). Ядерная экспрессия в клетках стромы наблюдалась в 28,8 и 55,0 % случаев соответственно при узловой и диффузной формах ($p = 0,003$); в 17,6; 52,5 и 75,0 % случаев соответственно при I–IIb, IIIa–IIIc и IV стадиях ($p < 0,001$); в 21,2; 28,7; 80,0 и 55,0 % случаев соответственно при T1, T2, T3 и T4 ($p = 0,002$);

в 21,7; 35,3; 51,4 и 55,0 % случаев соответственно при N0, N1, N2 и N3 ($p = 0,005$); в 49,0 и 29,0 % случаев соответственно при негативном и позитивном статусах ПР ($p = 0,014$) и в 30,3 и 52,8 % случаев соответственно при HER2-негативном и HER2-позитивном статусе РМЖ ($p = 0,014$).

Заключение. Учитывая, что ядерная экспрессия PD-L1 в клетках стромы, цитоплазматическая экспрессия маркера в изолированных кластерах опухолевых клеток и в перитуморальных микрососудах связаны с такими ключевыми факторами прогноза РМЖ, как наличие регионарных и отдаленных метастазов, определение экспрессии PD-L1 в описанных структурах может быть использовано для уточнения прогноза заболевания.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 23-25-00183, <https://rscf.ru/project/23-25-00183/>).

ОСОБЕННОСТИ ОПУХОЛЕВОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ ПРИ РЕЗИСТЕНТНОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е.Ю. Зяблицкая, К.А. Алиев, В.В. Олексенко

ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», Симферополь
e-mail: evgu79@mail.ru

Ключевые слова: рак молочной железы, химиотерапия, микроокружение

Введение. Более 11 % злокачественных опухолей составляет РМЖ, выявляемый в более 25 % случаев на стадии, когда необходима неoadъювантная химиотерапия (НХТ), при которой опухоль может проявить резистентность (Каприн А.Д. и др., 2021). Актуален подбор критериев чувствительности РМЖ к терапии, в том числе с учетом исследований микроокружения опухоли как важного фактора регуляции ее развития.

Цель исследования – изучение молекулярных характеристик опухолевого микроокружения при резистентном местнораспространенном РМЖ.

Материалы и методы. ИГХ-методом изучены фрагменты тканей молочной железы здоровых женщин, с РМЖ, ответивших на НХТ, с резистентными к НХТ формами рака. Исследовали маркеры: bcl-2, CD-95, TNF, p53, iNOS, CD20, VEGF, Ang-2, MMP12. Использовали автоматизированную пробоподготовку, иммунофлуоресценцию Bond-MAX, микроскоп Leica DM2000.

Результаты. В здоровой ткани эпителий протоков умеренно экспрессирует bcl-2 и CD95, преимущественно в цитоплазме. В случаях с опухолью выявлена потеря экспрессии bcl-2 в большей части эпителиоцитов и рост экспрессии CD95 на мембранах, что свидетельствует о возможной эффективности иммунотерапии за счет готовности клеток к экзогенно-индуцированному апоптозу. При резистентных формах наблюдается значительное усиление экспрессии bcl-2 и снижение числа

FAS-рецепторов. В случаях с низким FAS экспрессия TNF, p53, iNOS снижена. TNF детектируется в чувствительных к НХТ опухолях не только в макрофагах стромы и моноцитах, но и в клетках эпителия, в этих случаях ткань инфильтрирована лимфоцитами. Сосудистые факторы не зависят от ответа опухоли на НХТ, но их активность снижается вследствие ее эффекта.

Заключение. Обращают на себя внимание два варианта ответа в соответствии с данными клинической эффективности. Резистентность опухоли к химиотерапии проявляется в виде ухода клеток от апоптоза (повышение bcl-2 и снижение FAS, снижение TNF), блокировки ферментов клеточного метаболизма (p53, iNOS) и слабой инфильтрацией лимфоцитами.

Работа поддержана FZEG-2023-0009 «Изучение гетерогенности микроокружения опухоли как фактора ее агрессивности и резистентности к терапии» (проект № 123030700011-4).

ОРГАНОСПЕЦИФИЧНОСТЬ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

М.К. Ибрагимов, М.М. Цыганов, Н.В. Литвяков
НИИ онкологии ФГБНУ «Томский НИМЦ РАН», Томск
e-mail: imk1805@yandex.ru

Ключевые слова: рак молочной железы, метастазы, молекулярная органоспецифичность

Введение. Рак молочной железы (РМЖ) является одним из наиболее распространенных ЗНО среди женщин во всем мире. РМЖ проявляет метастатическую гетерогенность с приоритетом в различные органы, что приводит к различиям в прогнозе и ответе на терапию у пациентов. Кости, легкие, печень и головной мозг считаются основными мишенями для метастазирования при РМЖ. Молекулярный механизм различной органоспецифичности РМЖ еще находится на стадии изучения. Появление новых геномных подходов в последние годы привело к беспрецедентным изменениям в понимании органоспецифичности метастазирования РМЖ и предоставило новую платформу для создания более эффективных терапевтических средств.

Цель исследования — обобщение последних данных по молекулярным органоспецифичным маркерам метастазирования как основы возможного терапевтического подхода для улучшения диагностики и прогноза пациентов с метастатически гетерогенным РМЖ.

Результаты. Определены органоспецифичные маркеры метастазирования РМЖ в отдаленные органы: в кости — P1NP, CTX, 1-СТР, ИЛ-1 β , CAPG/GIPC1, PRLR, PRDX4, PAK4, MAF, DOCK4, CENPF, IBSP, MMP9, MMP13, TNFAIP6, CD200, DHRS3, ASS1, RIPK4, VIM, CXCL5/CXCR2, RANKL/RANK, CXCL-12, ESR1, ANGPTL2; в легкие — DKK1, SIRT7, NID1, EGFR, VCAM-1, Connexin43 (Cx43); в печень — CXCR4/

CXCL12, PDK1, Connexin43 (Cx43), PPFIA1, ESR1, AKT1, ERBB2, FGFR4; в головной мозг — PI3K, CDK4 и CDK6, STAT3, JAK, JAK2, COX2, FABP7, PLVAP; в органы женской репродуктивной системы — FOXA1, GATA3, MDM4, CDK6, FGFR1, MYC, CCND1, CDK4, MDM2; в поджелудочную железу — GATA3 и ERBB2. Определен геномный профиль органоспецифичного метастазирования РМЖ. Идентифицированы гены, высокая экспрессия которых в значительной степени связана с типом метастатического распространения, включая 5 генов, специфичных для костей (CHAD, EYA1, TGFBI, VAX, HOXA9); 4 гена, специфичных для костей (WIFI, VIT, FOXC2, MME); 2 гена, специфичных для головного мозга (FGF1, SOX2); 2 гена, специфичных для головного мозга (RASGRF1, CHI3L1), и 2 гена, специфичных для печени (GGH, MARCO).

Заключение. Накопленные за последнее десятилетие знания о геномике РМЖ значительно расширили понимание внутриопухолевой гетерогенности, которая в настоящее время считается движущей силой прогрессирования рака. Согласно имеющимся данным литературы, в настоящей работе представлена информация о биомаркерах метастазирования в различные органы-мишени при РМЖ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 21-15-00243).

ИЗМЕНЕНИЕ МИГРАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ЛИНИЙ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА ПОД ВЛИЯНИЕМ МЕТАБОЛИТОВ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ

**Н.И. Игнатова, М.И. Пряжникова, И.Н. Дружкова,
М.В. Ширманова**

ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Нижний Новгород
e-mail: ignatova_n@pimunn.net

Ключевые слова: миграционная активность, колоректальный рак, кишечная палочка

Введение. Микроокружение опухоли значимо влияет на метаболизм, химиочувствительность и способность к миграции (метастазированию) опухолевых клеток. Среди факторов микроокружения для КРР не последнюю роль играют метаболиты бактерий, входящих в состав микробиома человека. Однако их влияние на активность клеток КРР до сих пор является малоизученной областью в онкологии.

Цель исследования — оценка миграционной активности линий КРР под влиянием метаболитов различных штаммов *E. coli*.

Материал и методы. Материалом для исследования послужили линии КРР НСТ116, НТ29, SW480, SW837, а также метаболиты различных штаммов *E. coli*, в том числе представители нормобиоты и полученные от пациентов с КРР. Линии КРР были охарактеризованы

по морфологии, экспрессии E-кадгерина, исходному уровню миграционной активности и после воздействия метаболитов. Для получения метаболитов бактерии культивировали в жидкой среде ДМЕМ в течение 24 ч, затем фильтровали и использовали для экспериментов в разведении 1:1,5. Эксперименты проводили на 2D- и 3D-моделях КРР. КРР. Миграцию оценивали путем измерения зоны мигрирующих из сфероидов клеток и в эксперименте «заживление раны». Полученные данные анализировали с помощью методов непараметрической статистики в программе Statistica 10.0.

Результаты. Линии КРР отличались по уровню экспрессии E-кадгерина и исходному уровню миграционной активности. Наименее чувствительными к действию метаболитов оказались линии HT29 и SW837 – их исходный уровень миграции был низким и не изменился в эксперименте. В то время как линии HCT116 и SW480 показали увеличение мобильности под действием метаболитов опухоли-ассоциированных штаммов *E. coli*. Показано статистически значимое увеличение миграции клеток КРР в присутствии метаболитов бактерий кишечной флоры по сравнению с контролем ($p < 0,05$). По сравнению с пробиотическими штаммами, метаболиты бактерий, полученных от пациентов, активнее стимулировали миграцию КРР, однако усиления пролиферации КРР отмечено не было.

Закключение. Метаболиты представителей микробиома кишечника онкобольных могут усиливать миграционную активность клеток КРР, что, в свою очередь, может способствовать прогрессии КРР.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 23-74-00045).

СВЯЗЬ СОДЕРЖАНИЯ АКТИН-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ В ТКАНИ ОПУХОЛИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ГОЛОВЫ И ШЕИ С ПРОГРЕССИРОВАНИЕМ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Г.В. Какурина^{1,2}, Е.Е. Середа^{1,2}, О.В. Черемисина¹,
И.В. Кондакова¹, Е.Л. Чойзонов¹

¹НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН, Томск;
²ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск
e-mail: kakurinagv@oncology.tomsk.ru

Ключевые слова: плоскоклеточный рак головы и шеи, метастазирование, прогноз, актин-связывающие белки, микроокружение опухоли

Введение. Известно, что реорганизация цитоскелета опухолевой клетки с помощью актин-связывающих белков (АСБ) обеспечивает метастатический потенциал опухоли. Плоскоклеточный рак головы и шеи (ПРГШ) – одно из агрессивных опухолевых заболеваний с коротким сроком до прогрессирования. Поэтому исследование молекулярных характеристик опухоли

важно для определения дополнительных кандидатных маркеров прогноза течения ПРГШ.

Цель исследования – проведение анализа содержания АСБ (аденилилциклаза-ассоциированного протеина-1, кофилина-1, профилина-1, фасцина-1 и эзрина) в опухолевой ткани больных ПРГШ и сопоставление данных с развитием у них рецидива после противоопухолевой терапии.

Материалы и методы. Тканевый материал был получен от 33 больных ПРГШ (Т1–4N0–2M0) перед началом противоопухолевой терапии. Уровень АСБ определяли в гомогенатах ткани с помощью иммуноферментного анализа наборов согласно инструкции. Для статистического анализа использовалась IBM SPSS Statistics 22.0.

Результаты. В опухолевой ткани у больных ПРГШ со стадией Т3–4N0–2M0 был увеличен уровень PFN1 на 25 % ($p = 0,02$), по сравнению с этим показателем в группе пациентов со стадией Т1–2N0–2M0. У больных ПРГШ с лимфогенным метастазированием был увеличен уровень CAPI на 25 % в опухолевой ткани по сравнению с этим показателем у больных без метастазов. У этих же больных в морфологически не измененной ткани снижался почти в 2 раза уровень FSCN1 по сравнению с опухолевой тканью. Значимость бинарного показателя составила AUC = 0,85 ((0,65; 1,0), чувствительность 83 %, специфичность 80 %. В опухолевой ткани больных ПРГШ, у которых в течении 2 лет после противоопухолевой терапии произошла прогрессия опухолевого процесса, был изначально увеличен уровень CAPI. При этом уровень CAPI в опухоли коррелировал с его уровнем в морфологически не измененной ткани ($r = 0,6$), аналогичная корреляция наблюдалась и для уровня PFN1 ($r = 0,8$).

Закключение. Впервые дана комплексная оценка содержания АСБ в опухолевой и морфологически не измененной тканях больных ПРГШ. Показано, что прогрессирование ПРГШ отражается на уровне изучаемых АСБ как в опухолевой, так и в неизмененной тканях.

КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ БЕЛКАМИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ИММУННОГО ЦИКЛА У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е.В. Каюкова, Э.С. Болотов, Е.В. Фефелова
ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, Чита
e-mail: elena_pochta22@mail.ru

Ключевые слова: рак молочной железы, противоопухолевый иммунный цикл

Введение. Одним из механизмов опухолевой прогрессии является ингибирование противоопухолевого иммунного цикла (ПИЦ). Белки ПИЦ могут выступать

как в роли его ингибиторов, так и стимуляторов. ПИЦ продолжает изучаться в современной онкологии с целью совершенствования методик прецизионной терапии, в т. ч. у больных РМЖ.

Цель исследования – установление корреляционных взаимосвязей между отдельными белками ПИЦ у больных РМЖ.

Методы и материалы. Выполнен корреляционный анализ ранее полученных данных по изучению ПИЦ в суспензии клеток, полученных из опухолевых биоптатов РМЖ I–IIA стадий.

Материал забирался под УЗИ-навигацией из локуса опухолевого поражения. Метод исследования – проточная цитофлуориметрия с использованием панели NU Immune Checkpoint Panel 1 – S/P (10-plex) w/FP (Канада). Определяли следующие показатели: sCD25, 4-1BB, B7.2, CTLA-4, PD-L1, PD-1, Tim-3, LAG-3, Galectin-9, sCD27, PD-L2. Корреляционный анализ выполнялся путем расчета коэффициента Спирмена. Для оценки силы связи использовалась шкала Чеддока.

Результаты. Выявлены следующие корреляционные взаимосвязи: sCD25 – B7.2 ($r = 0,0386, p = 0,048$); Tim-3 – sCD25 ($r = 0,399, p = 0,040$); Tim-3 – CTLA4 ($r = 0,445, p = 0,02$); LAG-3 – PD-1 ($r = 0,524, p = 0,005$); Galectin-9 – Tim-3 ($r = 0,469, p = 0,015$).

Закключение. Выявленные корреляционные взаимосвязи представляют собой как научный, так и практический интерес для продолжения изучения механизмов регуляции ПИЦ, механизмов иммунорезистентности, опухолевой прогрессии, а также совершенствования лекарственной терапии.

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БЕЛКОВ АНР, АНРР И ГЕНОВ-МИШЕНЕЙ АНР В ОБРАЗЦАХ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО КУРЯЩИХ И НЕКУРЯЩИХ ПАЦИЕНТОВ

В.С. Кобелев^{1,2}, А.В. Савкова^{1,2}, Е.Ю. Алексеенко¹,
А.А. Чапанов³, В.В. Козлов³, Л.Ф. Гуляева^{1,2}

¹ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»,
Новосибирск;

²ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск;

³ГБУЗ НСО «Новосибирский областной клинический онкологический диспансер», Новосибирск
e-mail: element1@fire@gmail.com

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, курение, AhR, AhRR, Bcl6, CYP1A1, PTEN

Введение. Курение как один из основных факторов риска развития немелкоклеточного рака легких (НМКРЛ), особенно его плоскоклеточного варианта (ПКРЛ), является модулятором различных сигнальных путей и внутриклеточных ферментативных систем.

Система транскрипционных факторов AhR/AhRR (арилгидрокарбонowego рецептора и его репрессора) является специфическим клеточным ответом на ксенобиотики ароматического ряда (ТХДД, бензо(а)пирен и др.), а ее нарушение способствует малигнизации клеток.

Цель исследования – определение связи между экспрессией AhR, AhRR, Bcl6, CYP1A1 и PTEN в образцах аденокарциномы легкого и ПКРЛ курящих и некурящих пациентов.

Материалы и методы. Для проведения исследования было использовано 49 образцов аденокарциномы легкого (25 курящих, 24 некурящих) и 20 образцов (все курящие) ПКРЛ. Образцы опухоли получены в ходе операции, фиксированы в формалине и помещены в парафиновые блоки для дальнейшего исследования. Все экспериментальные процедуры были одобрены Биоэтическим комитетом ФИЦ ФТМ. Для определения содержания белков AhR, AhRR, Bcl6, CYP1A1 и PTEN использовали ИГХ-анализ (колориметрический метод) зафиксированных в формалине микропрепаратов образцов НМКРЛ легкого с применением антител ab172610, ab227647, mbs1378250, ab234817, ab2769. Группы курящих и некурящих по содержанию каждого из белков оценивались с использованием метода хи-квадрат.

Результаты. Были получены коллекции образцов НМКРЛ легких, окрашенных ИГХ на белки АНР, АНРР, Bcl6, Cyp1A1, выступающие участниками AhR пути, а также онкосупрессор PTEN. Согласно нормированному коэффициенту Пирсона, наблюдалась средняя связь между курением и экспрессией AhR. Была обнаружена также обратная зависимость экспрессии AhRR (увеличение в 2 раза) и PTEN (снижение в 2 раза) у пациентов вне зависимости от статуса курения ($p < 0,05$). Увеличение содержания белка AhRR коррелировало со снижением содержания белка AhR и его гена-мишени CYP1A1 у курящих пациентов ($p < 0,05$). Уровни Bcl6 не показали связи с курением.

Закключение. Обратная корреляция между уровнем репрессора PTEN, AhR, CYP1A1 и репрессора АНРР указывает на тесную взаимосвязь транскрипционных механизмов, которые могут привести к развитию опухоли. Полученные результаты подтверждают различные механизмы канцерогенеза, опосредованные AhR/AhRR, у курящих и некурящих пациентов с НМКРЛ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ
(грант № 22-15-00065,

«Поиск новых мишеней для диагностики и терапии плоскоклеточного рака легкого»).

НОВЫЕ ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ ДЛЯ МЕТАСТАТИЧЕСКОЙ УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМЫ

О.А. Коваль^{1,2}, М.В. Жильникова^{1,2}, О.С. Троицкая²,
Д.Д. Новак², Т.А. Гайнер¹, Д.В. Черных^{1,3}, В.В. Агаманов^{1,3}

¹ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной
медицины» СО РАН, Новосибирск;

²ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский
государственный университет», Новосибирск;

³Новосибирский филиал «НИМЦ ГМНТК Микрохирургия
глаза им. С.Н. Федорова», Новосибирск
e-mail: o.koval@niboch.nsc.ru

Ключевые слова: увеальная меланома, метастазы, мышшь

Введение. Увеальная меланома (УМ) развивается из меланоцитов увеального тракта. Благодаря высокой степени васкуляризации сосудистой оболочки глаза, клетки УМ распространяются в отдаленные органы через кровоток. Метастазы обнаруживаются у более чем половины пациентов с УМ с преимущественной локализацией в печени (свыше 90 % метастазов), легких, костях, коже и ЛУ.

Цель исследования — выявить наиболее перспективные прогностические и терапевтические подходы для лечения метастатической УМ.

Материалы и методы. В качестве объектов исследования были использованы персональные культуры трансформированных меланоцитов, полученные нами из образцов опухолей из энуклеированных глаз пациентов с УМ. Метастатический потенциал персональных культур клеток УМ оценивали при внутривенном введении клеток, экспрессирующих красный флуоресцентный белок mKate2, иммунодефицитным мышам. Экспрессию молекулярных маркеров оценивали методом иммуноферментного анализа, вестерн-блоттинга и проточной цитометрии.

Результаты. На основании данных об экспрессии характерных молекулярных маркеров УМ в клетках персональных культур, ультраструктуре этих клеток, их кариотипе, хромосомных перестройках, драйверных мутациях, продукции VEGF, характерных сайтах метастазирования при трансплантации на животных, а также продолжительности безрецидивного периода и развитии метастатической болезни у доноров первичного материала (по данным истории болезни) построены корреляционные кривые, отражающие значимость прогностического потенциала изучаемых параметров. Для разработки терапевтического подхода по лечению первичной УМ экспериментально подобраны условия облучения персональных культур клеток УМ струей гелиевой холодной плазмы, формируемой при атмосферном давлении. Показано, что персональные культуры клеток УМ проявляли чувствительность к холодной плазме.

Заключение. Выявлены наиболее значимые молекулярные маркеры развития метастатической формы УМ и показан потенциал струи холодной плазмы для лечения первичной УМ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 23-14-00285).

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ JAK-STAT ПРИ ГРИБОВИДНОМ МИКОЗЕ

И.В. Козлова, А.А. Воронцова, А.Э. Карамова,
Д.А. Вербенко, А.А. Кубанов

ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии
и косметологии» Минздрава России, Москва
e-mail: ikozlova_work@inbox.ru

Ключевые слова: Т-клеточные лимфомы кожи, грибовидный микоз, экспрессия генов, сигнальный путь JAK-STAT

Введение. Грибовидный микоз (ГМ) — заболевание из группы первичных Т-клеточных лимфом кожи. Пятилетняя выживаемость больных ГМ варьирует в зависимости от стадии заболевания: 97 % на ранних стадиях, 41 % — на поздних. Считается, что ГМ медленно прогрессирует, однако встречаются пациенты с быстро прогрессирующим течением, плохим или недостаточным ответом на терапию. В основе патогенеза ГМ лежат нарушения иммунных, апоптотических и эпигенетических механизмов. Сигнальный путь JAK-STAT играет ключевую роль в развитии, пролиферации, дифференцировке и выживании опухолевых клеток.

Цель исследования — анализ экспрессии генов сигнального пути JAK-STAT в видимо непораженной коже и в очаге поражения у больных ГМ на ранних стадиях.

Материалы и методы. В исследование включены образцы видимо непораженной кожи и кожи из очага поражения от пациентов с ГМ на ранних стадиях ($n = 31$). Пациентов разделили на две группы: с медленно прогрессирующим течением и хорошим ответом на терапию ($n = 23$) и с прогрессирующим течением с плохим или недостаточным ответом на лечение ($n = 8$). Экспрессию генов JAK1, JAK2, JAK3, STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5A, STAT5B, STAT6 определяли методом ПЦР в реальном времени. Анализ данных проводили на языке программирования R с использованием метода 2- $\Delta\Delta Ct$.

Результаты. В видимо непораженной коже обнаружены различия для гена STAT1, экспрессия которого у пациентов с прогрессирующим течением была в 2,3 раза ниже, чем у пациентов с обычным течением ($p < 0,05$). В очаге поражения в группе с прогрессирующим течением экспрессия гена JAK2 была ниже в 1,6 раза, чем в группе с обычным течением ($p < 0,05$).

Заключение. Обнаружено статистически значимое снижение экспрессии генов STAT1 и JAK2 у пациентов с прогрессирующим течением ГМ, что указывает на их возможную предиктивную роль в оценке течения

заболевания. Сигнальный путь STAT1 вовлечен в модуляцию антиапоптотических механизмов, что соотносится с результатами исследований на мышах, где дефицит STAT1 способствовал быстрому развитию спонтанных и химически индуцированных опухолей. Роль JAK2 в патогенезе ГМ не описана. Таким образом, изучение изменений в экспрессии генов белков сигнальных путей является актуальным направлением, которое позволит лучше понять пути реализации патологического процесса и прогнозировать течение заболевания.

ВЛИЯНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА ВИТАФЕРИНА А НА ПРОТРУЗИОННУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ФИБРОСАРКОМЫ HT-1080

Е.А. Козлова¹, А.О. Жолудева², М.Е. Ломакина²,
А.Ю. Александрова²

¹Биологический факультет ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва;

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

e-mail: mymail.kozlova@gmail.com

Ключевые слова: витаферин, фибросаркома

Введение. Способность опухолевых клеток адаптировать механизм миграции в ответ на внешние и внутренние сигналы называется миграционной пластичностью и дает им существенные преимущества при метастазировании. Основными клеточными механизмами миграции являются мезенхимальная миграция (основана на формировании ламеллиподий, требует образования адгезий с субстратом) и амебоидная (характерно формирование специфических протрузий — бляшек, не зависит от фокальных адгезий). Изменение характера протрузионной активности может служить маркером миграционной пластичности. Появление сети виментиновых промежуточных филаментов (ВПФ) является одним из маркеров опухолевых клеток, перешедших к мезенхимальной миграции в процессе ЭМП. При подавлении экспрессии виментина клетки теряют способность активно мигрировать, поэтому витаферин А (WFA), вызывающий коллапс ВПФ, рассматривают как перспективный антиметастатический агент. Однако показано, что нокдаун виментина может вызывать мезенхимально-амебоидный переход, что позволяет злокачественным клеткам эффективно диссеминировать и уклоняться от воздействия фармакологических агентов.

Цель исследования — оценка способности WFA вызывать изменение протрузионной активности клеток фибросаркомы для проверки его роли в качестве активатора миграционной пластичности.

Материалы и методы. Исследование проводилось на клетках фибросаркомы человека HT-1080. Клетки инкубировали с 1 μM WFA в течение 2, 4, 6 ч. С помощью

прижизненной видеосъемки в режиме DIC микроскопии оценивали морфологию протрузий и динамику активного края клеток в присутствии WFA. Изменения цитоскелета и фокальных контактов оценивали с помощью иммуофлуоресцентного окрашивания.

Результаты. WFA вызывает перинуклеарную агрегацию ВПФ. У примерно 80 % клеток отмечено снижение ламеллиподиальной активности, что свидетельствует о торможении мезенхимальной миграции и является желаемым терапевтическим эффектом WFA. Однако остальные 20 % формировали мелкие мембранные бляшки на краю клеток. Кроме того, при обработке WFA выявлены изменения в организации микротрубочек на краях клеток и уменьшение числа точечных фокальных контактов.

Заключение. Перинуклеарная агрегация ВПФ, вызванная WFA, может приводить не только к снижению псевдоподиальной активности, но и вызывать мембранный блябинг, что может свидетельствовать о мезенхимально-амебоидном переходе и стимуляции миграционной пластичности. Возможность мезенхимально-амебоидного перехода под действием WFA в условиях 3D-миграции еще предстоит изучить.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 22-15-00347).

ГЯРНП А2В1 ПЕРЕРАСПРЕДЕЛЯЕТСЯ ВНУТРИ ЯДРА В ОТВЕТ НА ГЕНОТОКСИЧЕСКИЙ СТРЕСС

Д.В. Кригер, Д.Г. Тентлер

ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург
e-mail: daryamalikova@gmail.com

Ключевые слова: генотоксический стресс, белок

Введение. Ген *ACTN4* играет важную роль в регуляции клеточной миграции, адгезии и формировании цитоскелета. Часто наблюдается амплификация гена *ACTN4* у пациентов с карциномами поджелудочной железы, яичников, легких и слюнных желез. При этом амплификацию *ACTN4* связывают с худшим прогнозом выживаемости. Применение адьювантной терапии для пациентов с немелкоклеточным раком легкого, характеризующимся высоким уровнем экспрессии *ACTN4*, было ассоциировано с повышенной выживаемостью. В ходе предыдущих наших работ мы установили, что *ACTN4* вовлечен в регуляцию репарации двуцепочечных разрывов ДНК, индуцированных этопозидом или доксорубицином, посредством координации сборки комплексов 53BP1 и BRCA1. Однако остается непонятным механизм, посредством которого *ACTN4* может оказывать влияние на регуляцию сборки этих комплексов. В литературе описано более сотни белков, с которыми взаимодействует *ACTN4*. Среди интерактантов *ACTN4* обнаружены гетероядерные рибонуклеопротеины (гЯРНП), которые представляют собой группу белков, вовлеченных в широкий спектр процессов метаболизма нуклеиновых кислот, включая альтернативный

сплайсинг, стабильность мРНК, регуляцию транскрипции и трансляции, а также репарацию ДНК.

Цель исследования — оценка влияния генотоксического стресса на распределение гяРНП, взаимодействующих с *ACTN4*.

Материалы и методы. В работе была использована клеточная линия немелкоклеточного рака легкого *H1299*. Клетки обрабатывались этопозидом (50 мкМ) или доксорубицином (1,5 мкМ) в течение 1 ч. Для оценки распределения белков применяли методы иммуноцитохимии и субклеточного фракционирования с последующим разделением белков в ПААГ-SDS и детекцией при помощи метода иммуногибридизации.

Результаты. Мы обнаружили, что обработка доксорубицином приводит к накоплению *ACTN4* во фракции белков, тесно связанных с хроматином. Было проанализировано распределение гяРНП L, C1/C2, A1 и A2B1. Для гяРНП A1 и A2B1 было показано, что в результате генотоксического стресса происходит их перераспределение между нуклеоплазмой и хроматином. Через 3 ч после удаления препарата из культуральной среды мы не наблюдали отличий в уровне гяРНП A2B1 относительно контроля. Пока остается открытым вопрос — происходит ли перераспределение гяРНП A2B1 в фокусы gH2AX?

Заключение. Обработка этопозидом или доксорубицином приводит к перераспределению гяРНП в клетках линии *H1299*. Для понимания *ACTN4*-зависимых механизмов требуются дополнительные исследования.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ МИШЕНЕЙ РЕЦИДИВИРУЮЩЕЙ ГЛИБЛАСТОМЫ

Т.И. Кушнир, Н.Е. Арноцкая, И.А. Кудрявцев,
А.А. Митрофанов, А.Х. Бекашев, В.Е. Шевченко
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава
России, Москва
e-mail: winard2@mail.ru

Ключевые слова: глиобластома, опухоль, протеомная масс-спектрометрия

Введение. Большинство современных исследований ГБ фокусируются на вновь диагностированных и нелеченых опухолях, тогда как биология рецидивирующей глиобластомы (РГБ) остается в значительной степени неизвестной. В настоящее время разработка методов терапии РГБ основана на знаниях о первичной ГБ, хотя накапливается все больше данных, указывающих на существенные молекулярно-генетические различия между первичной ГБ и РГБ. В связи с этим актуальными становятся фундаментальные исследования по РГБ, которые помогут идентифицировать потенциальные терапевтические мишени для лечения РГБ.

Цель исследования — идентификация потенциальных терапевтических мишеней РГБ.

Материалы и методы. Протеомная масс-спектрометрия высокого разрешения, современные биохимические методы и биоинформатические технологии.

Результаты. Впервые проведен анализ протеомов образцов опухолевой ткани РГБ в сравнении с нормальной тканью головного мозга человека. В целом идентифицировано 1569 протеинов, из которых 156 увеличивали или уменьшали экспрессию более чем в 2 раза при сравнении протеомных карт 2 видов ткани головного мозга. При биоинформатическом анализе полученных результатов с использованием программы GSEA (Gene Set Enrichment Analysis), а также баз данных TCGA (The Cancer Genome Atlas Program) и CPTAC (Clinical Proteomic Tumor Analysis Consortium), основное внимание уделяли белкам, чья экспрессия была значительно повышена как в ткани РГБ, так и в первичной опухоли ГБ в сравнении с нормой. Дополнительно учитывались клинико-патологические характеристики кандидатных белков и их мРНК, а также их участие в патогенезе ГБ. В результате была сформирована панель из 12 потенциальных мишеней для РГБ (*P4HB, FAM3C, GNS, HSPA5, TRIM47, BLVRA, PDIA3, HSPB1, ADRM1, ERP29, IKBIP, POR*) и проведена оценка их роли в патогенезе ГБ.

Заключение. Идентифицированы потенциальные терапевтические мишени РГБ, которые могут использоваться при разработке более эффективных препаратов для лечения рецидивов ГБ.

ИЗМЕНЕНИЕ СОСТОЯНИЯ ОНКОСУПРЕССОРА P53 И РЕАКЦИИ КЛЕТОК ЛИНИИ SH5Y5У НА ГЕНОТОКСИЧЕСКИЙ СТРЕСС ПРИ НОКДАУНЕ ГЕНА МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ SET7/9

А.В. Лакомская, С.Е. Парфеньев, А.А. Дакс, Н.А. Барлев
ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург
e-mail: anastasiya.lakoms kaya@spcpru.ru

Ключевые слова: нейробластома, p53, set7/9, цисплатин, доксорубин, этопозид

Введение. Нейробластома — наиболее распространенная экстракраниальная солидная опухоль, диагностируемая у детей до 15 лет. Опухоль данного типа развивается из недифференцированных клеток нейронного ряда — нейробластов и характеризуется агрессивным течением и быстрым развитием метастазов. Одним из основных подходов к лечению нейробластомы является ХТ. Настоящая работа посвящена исследованию механизмов регуляции ответа клеток нейробластомы на терапию генотоксическими препаратами.

Цель исследования — изучение роли Set7/9 в ответе клеток нейробластомы на обработку этопозидом, доксорубицином и цисплатином, применяющимся согласно многим схемам в первой линии ХТ нейробластомы.

Материалы и методы. В данной работе использовали клеточную линию SH-SY-5Y, которая является субклоном линии нейробластомы – SK-N-SH, полученной из костного мозга человека. Клетки SH-SY-5Y характеризуются экспрессией белка p53 дикого типа, который, как известно, является основным онко-супрессором человека, отвечающим за активацию апоптоза в клетках. Функции белка p53 тонко регулируются, в том числе, с помощью посттрансляционных модификаций. Метилтрансфераза Set7/9 представляет собой фермент, осуществляющий метилирование белка p53, который способствует стабилизации и повышению активности последнего. Set7/9 является важным участником таких клеточных процессов, как пролиферация, ответ на стрессовые стимулы, репарация ДНК, аутофагия и программируемая клеточная гибель.

Результаты. В клетках линии SH-SY-5Y путем лентивирусной трансдукции был осуществлен нокдаун гена, кодирующего Set7/9, для исследования роли данного белка в восприимчивости клеток нейробластомы к химиопрепаратам. В результате мы показали, что при обработке эпозидом, цисплатином, доxorубицином в клетках с нокдауном Set7/9 происходит снижение уровня белка p53, а также расщепленной формы белка PARP1, что свидетельствует о снижении уровня апоптоза. Также с помощью МТТ-теста выявили повышение выживаемости клеток с нокдауном Set7/9 по сравнению с контролем при обработке цисплатином.

Заключение. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что метилтрансфераза Set7/9 способствует поддержанию высокого уровня p53 и снижение уровня данного белка может привести к приобретению клетками нейробластомы резистентности к противоопухолевой ХТ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 19-75-10059).

ДИФФЕРЕНЦИРОВКА ФИБРОБЛАСТОВ В МИОФИБРОБЛАСТЫ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ СООТНОШЕНИЯ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ АКТИНОВ

Ю.Г. Левушкина¹, Н.В. Хромова², М.В. Васильева², П.Б. Копнин², В.Б. Дугина¹⁻³

¹Биологический факультет ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва;

²НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

³НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского ФГБОУ ВО

«МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва
e-mail: pbkopnin@mail.ru

Ключевые слова: изоформы актина, миофибробласты, стромальное микроокружение, фибробласты

Введение. Актин у высших позвоночных представлен 6 изоформами, различающимися локализацией и функциями. В отличие от мышечных изоформ, цитоплазматические β- и γ-актины присутствуют во всех клетках и своим соотношением определяют их фенотипические особенности. В частности, оно различно для фибробластов и миофибробластов. Выявление факторов, способствующих появлению миофибробластов стромального микроокружения, ключевых регуляторов опухолевой прогрессии, может открыть нам новое направление в терапии.

Цель исследования – изучение возможности дифференцировки фибробластов в миофибробласты путем изменения соотношения цитоплазматических изоформ актина.

Материалы и методы. Работу проводили на первичных культурах фибробластов подкожного слоя и десны здоровых доноров. С помощью РНК-интерференции с применением лентивирусных конструкций подавляли экспрессию γ-актина. ИФ-микроскопия позволила осуществить морфометрию клеток на разных сроках дифференцировки. Изменение профиля экспрессии изоформ актина оценивали с помощью классического ПЦР-анализа и вестерн-блоттинга. Для выявления цитоскелетных маркеров использовали мышинные моноклональные антитела anti-α-SM1, anti-γ-CYA, anti-β-CYA, ED-A FN IST-9, anti-Paxillin, anti-Desmin, кроличьи моноклональные антитела anti-Collagen I, anti-Elastin и anti-Collagen III, а также кроличьи поликлональные антитела anti-SMM.

Результаты. В ходе исследования были подобраны клеточные культуры и экспериментальные условия для осуществления индуцированной дифференцировки фибробластов в миофибробласты, проведена количественная оценка изменения соотношения изоформ актина, выявлены морфологические характеристики и маркеры клеток с подавленной экспрессией γ-актина.

Заключение. Снижение экспрессии γ-актина влияет на морфологию клеток: появляются выраженные пучки стресс-фибрилл, значительно увеличивается площадь клеток. По результатам вестерн-блоттинга и ПЦР-анализа отмечено компенсаторное увеличение экспрессии других изоформ актина. ИФ-анализ на α-гладкомышечную изоформу актина, паксиллин, внеклеточный домен фибронектина и коллаген III типа подтвердил реорганизацию клеточных контактов и внеклеточного матрикса. С помощью маркеров негативного контроля (гладкомышечный миозин и десмин) уточнено направление дифференцировки. Таким образом, цитоплазматические изоформы актина выполняют различные функции, и изменение их соотношения отражается не только на морфологии клеток, но и на окружающем их внеклеточном матриксе.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 23-15-00433).

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ИММУННЫХ КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК В ТКАНИ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЖЕЛУДКА

Д.Ж. Мансорунов¹, Ф.М. Кипкеева¹, Т.А. Музаффарова¹,
М.П. Никулин², О.А. Малихова², Н.В. Апанович¹,
А.А. Алимов¹

¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр
им. акад. Н.П. Бочкова», Москва;

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, Москва
e-mail: gah3ah@mail.ru

Ключевые слова: иммунные контрольные точки, экспрессия, рак желудка

Введение. РЖ — один из наиболее распространенных типов ЗНО. Ингибиторы иммунных контрольных точек (ИКТ) рассматриваются как одно из наиболее перспективных направлений в лекарственной терапии РЖ. Для понимания патогенеза и оптимизации терапевтических подходов при лечении РЖ у пациентов с микросателлитно стабильным фенотипом опухоли нами была предпринята попытка выявить особенности экспрессии генов, ассоциированных с иммунотолерантностью и прогрессией опухоли.

Цель исследования — изучение профилей экспрессии генов ИКТ (*ADAM17*, *PVR*, *CD274*, *CD276*, *CEACAM1*, *IDO1*, *TDO2*, *LGALS3*, *LGALS9*, *HHLA2*) и генов, вовлеченных в ЭМП (*CD44*, *SNAI1*, *ZEB1*, *ZEB2*, *CDH1*).

Материалы и методы. Исследована 51 пара образцов ткани аденокарциномы желудка (опухоль/норма): без метастазов — 17 образцов, с метастазами — 34. Анализ микросателлитной нестабильности проводили с использованием анализатора ABI PRISM 3500 Genetic Analyzer по пяти стандартным локусам. Уровень экспрессии генов оценивали при помощи количественной ПЦР и программного обеспечения QuantStudio Design and Analysis методом ΔΔCt.

Результаты. Изучена экспрессия генов ИКТ и их коэкспрессия с генами ЭМП. Показано наличие корреляционных связей между экспрессией генов *ADAM17*, *PVR*, *CD276* и генов *CD44*, *SNAI1*. Проведена оценка коэкспрессии генов на разных стадиях развития опухоли. Для неметастатического РЖ выявлена корреляционная связь между уровнями экспрессии генов *CD44* и *CD276*. Для метастатического РЖ показана корреляционная связь между экспрессией генов *ADAM17*, *PVR*, *CD276* и генов *CD44*, *SNAI1*. Обнаруженная в данной работе ассоциация генов ИКТ и ЭМП при РЖ не была описана ранее. Также показано, что для низкодифференцированных опухолей характерно достоверное понижение экспрессии генов *CD276* и *PVR*. Обнаружено, что наличие отдаленных метастазов ассоциировано с повышением уровня экспрессии гена *TDO2*.

Заключение. В данном исследовании на выборке больных РЖ с микросателлитно стабильным фенотипом впервые обнаружена корреляционная связь меж-

ду уровнями экспрессии генов *ADAM17*, *PVR*, *CD276* и генами *CD44* и *SNAI1*, ассоциированными с ЭМП. Для остальных генов такая связь не была выявлена. Полученные сведения являются полезными при разработке новых подходов терапии, а также создании прогностических моделей, основанных на молекулярно-генетическом тестировании.

РАЗОБЩЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСА HSP70-HMGB1 ПРЕДОТВРАЩАЕТ РАЗВИТИЕ РЕЦИДИВА ОПУХОЛИ ПОСЛЕ ХИМИОТЕРАПИИ

М.А. Микеладзе, Л.С. Кузнецова, В.Ф. Лазарев,
Б.А. Маргулис, И.В. Гужова

ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург
e-mail: marinamikeladze.cytspb@gmail.com

Ключевые слова: DAMP, Hsp70, HMGB1, рецидив

Введение. Возобновление опухолевого роста после ХТ — одна из актуальных проблем онкологии. При подобном способе лечения основная часть новообразования погибает, высвобождая в межклеточное пространство паттерны, ассоциированные с повреждением (DAMP). Такие молекулы вносят коррективы в дальнейшее развитие онкологического процесса, активируя репопуляцию выживших клеток, что ведет к повторному росту опухоли. Одним из важных DAMP является белок HMGB1, активная внеклеточная форма которого опосредует устойчивость к терапии. Помимо HMGB1, в процессе рецидива участвуют молекулярные шапероны, в частности Hsp70. Данный шаперон способен взаимодействовать с белками для сохранения их функциональной активности в период лечения. Мы предположили, что одним из клиентских белков Hsp70 является HMGB1, а образование комплекса в условиях ХТ и его последующий выход в межклеточное пространство может стимулировать процессы опухолевого рецидива.

Цель исследования — изучение роли комплекса Hsp70 — HMGB1 в процессе опухолевой репопуляции.

Материалы и методы. Для поиска активных компонентов кондиционной среды (КС) мы использовали уникальные *in vitro* и *in vivo* модели репопуляции. Анализ белков КС проводили с использованием методов иммунопреципитации, иммуноблоттинга, системы для оценки межбелковых взаимодействий и протеомного анализа. Для изучения пролиферации опухолевых клеток использовали тест на образование колонии, ПЦР-РВ и иммуноферментный анализ.

Результаты. Кондиционная среда, полученная от обработанных препаратами раковых клеток, содержала белковые факторы, инициирующие повторный рост опухоли. Исключение из КС одного DAMP — Hsp70 с помощью геля, несущего АТФ, не влияло на репопуляцию в двух опухолевых линиях разного генеза, в то время как иммунопреципитация Hsp70 с захваченными белками-клиентами резко снижала пролиферативную

активность культур. Используя протеомный и иммунохимический подходы, мы показали, что Hsp70 в КС находится в комплексе с другим распространенным DAMP-НМGB1. Разобщение комплекса с помощью блокатора Hsp70 значительно снижало возобновление опухолевого роста в моделях репопуляции *in vitro* и *in vivo*.

Заключение. Обилие комплекса Hsp70-НМGB1 во внеклеточном пространстве служит новым прогностическим маркером рецидива у онкобольных, а специфическая диссоциация комплекса может стать перспективной стратегией для лечения рака с высоким риском рецидива.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 19-74-20161).

РОЛЬ МИКРОСАТЕЛЛИТНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ (MSI) В ПРОГНОЗИРОВАНИИ КЛИНИЧЕСКИХ ИСХОДОВ У ПАЦИЕНТОВ С РАКОМ ЖЕЛУДКА

А.Д. Молчанов¹, Е.Б. Кузнецова^{1,2}, А.Э. Киселева¹,
М.В. Немцова^{1,2}

¹ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва;

²ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова», Москва
e-mail: m.artem.aug@gmail.com

Ключевые слова: рак желудка, микросателлитная нестабильность, маркер

Цель исследования — исследование микросателлитной нестабильности (MSI) у пациентов с РЖ и связи между клиническими параметрами пациентов и статусом MSI.

Материалы и методы. Исследование проведено на 160 парных образцах опухолевой и неопухолевой ДНК, полученных от пациентов с морфологически подтвержденным диагнозом РЖ. Тестирование проводилось при помощи фрагментного анализа STR-маркеров BAT25, BAT26, NR21, NR24, Mono27. Для оценки взаимосвязи между MSI и клиническими параметрами (пол, возраст, 5-летняя выживаемость, TNM, классификация по Лорен, стадия и анатомическая локализация опухоли) использовался критерий Фишера, связь считалась значимой при $p < 0,05$.

Результаты. По результатам исследования, MSI была обнаружена у 28 (17,5 %) из 160 пациентов. Пациентов MSI-H определяли при наличии нестабильности более чем в 4 маркерах, пациентов MSI-L — в 2 и менее маркерах. Соотношение пациентов с MSI-H и MSI-L в нашем исследовании оказалось 23 и 5 соответственно, все они были объединены в одну группу MSI+. Выявлена достоверная ассоциация MSI с такими клиническими характеристиками: возраст ($p < 0,038$), наличие метастазов в регионарных ЛУ (N) ($p < 0,028$), отдаленные метастазы (M) ($p < 0,009$), классификация по Лорен ($p < 0,046$). При исследовании связи 5-летней

выживаемости с MSI достоверных различий не выявлено, поскольку у 16 из 28 MSI+ пациентов не прошло 5 лет с момента постановки диагноза. При сравнении других клинических параметров (пол, критерий T, стадия и анатомическая локализация опухоли) статистически значимые различия не обнаружены.

Заключение. По результатам исследования данных 160 пациентов с РЖ обнаружена связь статуса MSI с возрастом, показателями N и M по классификации TNM, классификацией по Лорен и показано, что MSI+ статус может являться потенциальным прогностическим маркером при РЖ.

ВЛИЯНИЕ МИКОПЛАЗМЕННОЙ ИНФЕКЦИИ НА ОНКОГЕННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ КЛЕТОК РАКА ЛЕГКОГО A549

С.Е. Парфеньев, И.Е. Вишняков, А.А. Дакс, О.А. Федорова,
О.Ю. Шувалов, А.В. Лакомская, Н.А. Барлев

ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург
e-mail: gen21eration@gmail.com

Ключевые слова: микоплазменная инфекция, клетка рака легкого

Введение. Микоплазмы, являясь прокариотическими внеклеточными паразитами человека, служат причиной ряда заболеваний. Известно, что микоплазменная инфекция может способствовать злокачественной трансформации клеток, однако задействованные при этом механизмы остаются на данный момент недостаточно изученными. Представляет интерес изучение влияния инфицирования микоплазмами на основной опухолевый супрессор — белок p53, который управляет такими онкоген-ассоциированными процессами как апоптоз, клеточный цикл, репарация, поддержание стабильности генома.

Цель исследования — изучение влияния микоплазменной инфекции на онкогенный потенциал клеток рака легкого A549.

Материалы и методы. Работа выполнена на клетках аденокарциномы легкого A549, экспрессирующих p53 дикого типа, которые подвергали заражению путем добавления в культуральную среду микоплазм видов *M. arginini* и *M. salivarium*.

Результат. По истечении 7 дней после начала заражения мы проанализировали уровень p53 и p53-зависимых генов как в клетках, подвергшихся заражению микоплазмой, так и в контрольных неинфицированных клетках. С помощью количественной ОТ-ПЦР в реальном времени мы выявили, что инфицирование микоплазмой вызывает повышение экспрессии как p53, так и его транскрипционных мишеней — *PUMA* и *p21*, а также мембранного белка N-кадгерина, являющегося маркером мезенхимного фенотипа клеток. Мы также показали, что заражение микоплазмой способствует снижению экспрессии белка адгезии E-кадгерина,

экспрессия которого характерна для эпителиальных клеток. С помощью вестерн-блот анализа исследуемых зараженных клеток мы также выявили снижение уровней E-кадгерина и виментина и повышение уровня N-кадгерина. Важно отметить, что количество белка p53 значительно снижалось в результате инфекции.

Кроме того, при заражении *M. arginini* и *M. salivarium* было показано усиление миграционного потенциала и ослабление пролиферации клеток A549, что сопровождалось изменением клеточного цикла: увеличением G1 фазы и уменьшением S и G2-M фаз, причем воздействие противоопухолевым препаратом этопозидом на фоне инфицирования микоплазмой приводило к еще большему уменьшению количества клеток в S и G2-M фазах.

Заключение. Полученные данные позволяют предположить, что микоплазма влияет на внутренние процессы клеток хозяина, усиливая миграционную и уменьшая пролиферативную способности, снижая количество белка p53 и меняя клеточный цикл, что, в свою очередь, способствует приобретению устойчивости к противораковой химиотерапии и, соответственно, повышению канцерогенного потенциала клеток.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 19-75-10059).

ВЛИЯНИЕ НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ НА ТРАНСКРИПТОМНЫЙ ПРОФИЛЬ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ МОНОЦИТОВ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

М.Р. Патышева^{1,2}, И.В. Ларионова¹⁻³, П.С. Ямщиков²,
Е.С. Григорьева¹, М.Н. Стахеева¹, Н.А. Тарабановская¹,
Н.В. Чердынцева^{1,2}, Ю.Г. Кжышкова¹⁻⁴

¹НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН, Томск;

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

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

⁴Медицинский факультет Университета Гейдельберга, Мангейм, Германия

e-mail: Patysheva_mr@onco.tnims.ru

Ключевые слова: моноциты, рак молочной железы, химиотерапия, транскриптом, сигнальные пути

Введение. Циркулирующие моноциты являются эффекторами неспецифического иммунного ответа и представляют собой пластический ресурс для пополнения пула тканевых макрофагов, дендритных клеток и миелоидных клеток супрессоров. Установлено, что химиотерапевтическое лечение может быть фактором, способным изменять состав и свойства клеток системного иммунитета (Sprooten et al., 2023). К настоящему моменту не проводилось исследований свойств моноцитов онкологических больных в динамике ХТ на уровне транскриптомного профиля.

Цель исследования – изучение транскриптомного профиля моноцитов крови пациенток с РМЖ до и после предоперационной химиотерапии.

Материалы и методы. В работе было проведено исследование транскриптома моноцитов с помощью массового параллельного РНК-секвенирования в группе, состоящей из 9 больных РМЖ до лечения и после четырех курсов предоперационной НХТ.

Результаты. Согласно анализу с помощью метода главных компонент популяции моноцитов больных РМЖ отличаются до и после проведения НХТ на уровне транскриптомного профиля для каждого отдельного пациента. В то же время проведение кластерного анализа выявило отличия показателей транскриптома моноцитов групп больных до НХТ против показателей после НХТ. Проведенная терапия инициировала в моноцитах повышение экспрессии 152 генов, наиболее выраженными среди которых были *HBB*, *ABCA2*, *QARS1*, *CDK6*, *CIAPIN1*, *UCK1*, *MGLL*, *NR4A2*, *UCK1*, *YOD2*, *ABCA2*, *PAPSS2*, *ATP10A* и *SEPTIN1* ($\log_2 FC \geq 0,8$ и $FDR \leq 0,01$). Снижение экспрессии отмечено для 89 генов, среди которых наиболее выражены гены *KPNA2*, *ERCC4*, *JAGN1*, *RUBCNL*, *SMYD4*, *B3GALT4*, *MFLP3* ($\log_2 FC \geq 0,8$ и $FDR \leq 0,05$). После проведения НХТ в моноцитах активируются сигнальные пути, связанные с модификацией тубулина и активацией каскада Rho GTPase, и процессы формирования агрегосом, отвечающие за активную миграцию моноцитов ($NES > 1,5$). Последнее свидетельствует о способности моноцитов активно поступать в ткань опухоли. При этом подавляются процессы, связанные с ответом на чужеродные молекулы и с сигнальными путями ответа на интерферон-гамма и интерферон-альфа ($NES < -1,5$).

Заключение. Таким образом, отмечена способность ХТ изменять свойства моноцитов крови больных РМЖ. Проведение ХТ формирует обновленный пул моноцитов крови, для которых характерно снижение способности отвечать на воспалительные стимулы на фоне активизации процессов, регулирующих миграцию моноцитов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 22-25-00435).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЫВОРОТОЧНОГО СОДЕРЖАНИЯ НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА ГОЛОВНОГО МОЗГА В ОЦЕНКЕ ВЕРОЯТНОСТИ ОПУХОЛЕВОЙ ПРОГРЕССИИ У ПАЦИЕНТОВ С ГЛИАЛЬНЫМИ ОПУХОЛЯМИ

В.И. Прохорова, С.А. Красный, Т.П. Цырусь,
Л.А. Державец, Ю.Н. Грачев, О.В. Готько, О.А. Грицкова,
Н.А. Мавричева, Е.И. Белевич

РНПЦ онкологии и медицинской радиологии
им. Н.Н. Александрова, Минск, Беларусь
e-mail: vrohorova@mail.ru

Ключевые слова: нейротрофический фактор головного мозга, глиомы, опухолевая прогрессия

Введение. Рядом исследований установлено, что взаимодействие нейронов с опухолевыми и стромальными клетками способствует прогрессии различных ЗНО. Увеличение удельного веса нейронов в опухолевой ткани сопровождается выходом нейротрофических белков в кровь и коррелирует с агрессивностью заболевания.

Цель исследования – оценка прогностической значимости сывороточного содержания нейротрофического фактора головного мозга (BDNF) у пациентов с глиомами.

Материалы и методы. До лечения методом ИФА в сыворотке крови исследован уровень BDNF у 154 пациентов с глиомами. Из них у 44 пациентов морфологически верифицированы астроцитомы (Grade I–IV), у 23 – олигоастроцитомы (Grade II–III) и у 87 – ГБ (Grade I–IV). Группу контроля составили 30 здоровых лиц. Диагноз заболевания устанавливался при клинико-инструментальном и гистологическом исследовании опухоли. Для анализа данных применяли непараметрические методы статистики (Statistica, версия 10.0). Количественные значения показателей описывались в виде медианно-квартильных характеристик – Me (Q1; Q3). Статистическую значимость различий уровня BDNF у здоровых лиц и пациентов с глиомами оценивали по критерию Манна–Уитни (U-test). Для оценки степени связи между ранговыми и количественными переменными применялся коэффициент корреляции Кендалла (τ_{Kendall}), для оценки значимости различий – критерий Уилкоксона. При всех видах статистического анализа различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Медиана содержания в крови BDNF у пациентов с глиомами составила 1455,0 (1332,0; 2547,0) нг/мл и не имела значимых различий ($p_{\text{Mann-Whitney}} = 0,267$) с группой здоровых лиц, где медиана составила 1623,0 (1188,0; 2226,0) нг/мл. В зависимости от степени злокачественности медиана показателя у пациентов с глиомами Grade I ($n = 5$) составила 1071,0 (994,5; 1077,0) нг/мл, Grade II ($n = 44$) – 1383,0 (1161,0; 1839,0) нг/мл, Grade III ($n = 18$) – 2225,0 (1647,0; 2823,0) нг/мл, Grade IV ($n = 87$) – 2823,0 (1779,0; 3276,0) нг/мл. В результате исследования установлена умеренная корреляционная взаимосвязь концентрации BDNF ($\tau_{\text{Kendall}} = 0,43$, $p < 0,001$) со степенью злокачественности опухоли.

Заключение. Сывороточные уровни BDNF умеренно коррелируют со степенью злокачественности глиом ($\tau_{\text{Kendall}} = 0,43$, $p < 0,001$). Определение уровня BDNF на дооперационном этапе и при мониторинге пациентов может быть использовано в качестве потенциального признака и дополнительного прогностического критерия вероятности опухолевой прогрессии.

РЕГУЛЯЦИЯ СУПРЕССОРА ОПУХОЛЕЙ PTEN У КУРЯЩИХ ПАЦИЕНТОВ С ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКИХ

В.О. Пустыльняк, А.М. Перевалова, В.В. Козлов, Л.Ф. Гуляева

НИИ молекулярной биологии и биофизики ФГБНУ «ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск
e-mail: pustylnyak@post.nsu.ru

Ключевые слова: плоскоклеточный рак легких, супрессор легких

Введение. Белок PTEN является супрессором опухолей, инактивация которого наблюдается при различных видах рака. Согласно данным научной литературы, снижение уровня белка PTEN ассоциировано с гистологическим типом ПКРЛ у курящих пациентов. Однако до сих пор не ясен молекулярный механизм, который приводит к снижению уровня PTEN в тканях ПКРЛ при воздействии табачного дыма.

Цель исследования – выявление с использованием биоинформатического анализа возможного регуляторного пути, который вызывает ингибирование PTEN при воздействии курения.

Материалы и методы. В работе был проведен биоинформатический анализ с использованием доступных онлайн-баз данных и онлайн-платформ для анализа экспрессии *PTEN* и выявления сети регуляции генов у пациентов с ПКРЛ. Биоинформатические данные подтверждали определением экспрессии гена *PTEN* с помощью ОТ-ПЦР образцов, полученных от 56 пациентов с первичным ПКРЛ.

Результаты. Результаты биоинформатического анализа доступного массива данных показали снижение уровня экспрессии *PTEN* в тканях ПКРЛ по сравнению с нормальной тканью и ассоциацию наблюдаемого снижения *PTEN* с курением. Кроме того, результаты, полученные с использованием онлайн-платформ, продемонстрировали, что уровни экспрессии гена *PTEN* имеют статистически значимую отрицательную корреляцию с уровнями hsa-miR-301a в тканях ПКРЛ, особенно у курящих пациентов. Результаты ОТ-ПЦР продемонстрировали, что экспрессия гена *PTEN* значительно снижена, тогда как уровни hsa-miR-301a были повышены в тканях ПКРЛ, полученных от курящих пациентов. Корреляционный анализ экспериментальных результатов подтвердил наличие отрицательной корреляции между уровнями *PTEN* и hsa-miR-301a, выявленной ранее при анализе баз данных.

Заключение. Полученные результаты позволяют предположить, что hsa-miR-301a-опосредованное снижение уровня *PTEN*, индуцированное табачным дымом, может играть важную роль в патогенезе ПКРЛ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 22-15-00065).

ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР ZEB1 РАЗЛИЧНЫМ ОБРАЗОМ ВЛИЯЕТ НА СИНТЕЗ ХЕМОКИНА CCL2 В КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА

О.М. Семенов, А.А. Дакс, Н.А. Барлев

ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург

e-mail: setyonov.somspb@yandex.ru

Ключевые слова: рак молочной железы, эпителиально-мезенхимный переход, Zeb1, CCL2

Введение. Транскрипционный фактор Zeb1 относится к ключевым регуляторам ЭМП – процесса, лежащего в основе метастазирования. Zeb1 способен взаимодействовать с большим числом белков-партнеров, выступая в роли как активатора, так и репрессора транскрипции генов-мишеней. Клетки инвазивного края опухоли, как и клетки метастазов, могут привлекать моноциты крови, выделяя хемокин CCL2. Моноциты служат источником опухоли-ассоциированных макрофагов, подавляющих цитотоксический иммунный ответ, а также способствующих выживанию, пролиферации и миграции раковых клеток. Определение роли Zeb1 в регуляции экспрессии гена CCL2 для клеток РМЖ различных типов улучшит понимание принципов формирования иммунного микроокружения солидных опухолей, что может способствовать развитию методов терапии.

Цель исследования – сравнение влияния статуса Zeb1 в клеточных линиях РМЖ человека на выработку хемокина CCL2.

Материалы и методы. Исследование проводилось на клетках люминального типа А РМЖ человека, MCF7, с индуцируемой доксициклином экспрессией гена Zeb1. Кроме того, использовали клеточные линии РМЖ человека трижды-негативного субтипа, MDA-MB-231 и Hs578T, несущие нокдаун гена Zeb1. Сравнение уровня транскрипции гена CCL2 между клеточными линиями проводилось методом количественной ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ). Определение содержания хемокина CCL2 в кондиционной среде опухолевых клеток проводилось с помощью иммуноферментного анализа.

Результаты. В клеточной линии MCF7 положительный статус Zeb1 способствует активации экспрессии гена CCL2, что подтверждают данные ПЦР-РВ и иммуноферментного анализа. В противоположность, в линии MDA-MB-231 повышение экспрессии CCL2 как на уровне мРНК, так и на уровне синтеза белка происходит при нокдауне гена Zeb1. С другой стороны, клетки Hs578T демонстрируют отсутствие воздействия статуса Zeb1 на выработку CCL2. Таким образом, влияние Zeb1 на синтез CCL2 является специфичным для каждой конкретной клеточной линии.

Заключение. По-видимому, профиль экспрессии генов белков-партнеров Zeb1, характерный для каждой конкретной линии, способен кардинальным образом

изменять значение статуса Zeb1 в регуляции экспрессии CCL2.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 19-75-10059).

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО- БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТКАНЕВЫХ ШТАММОВ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГЛИОБЛАСТОМЫ КРЫС

А.В. Сентябрева, Е.А. Мирошниченко, А.М. Косырева

НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына
ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского», Москва;
НИИ молекулярной и клеточной медицины ФГАОУ ВО
«Российский университет дружбы народов», Москва
e-mail: alexandraasentyabreva@gmail.com

Ключевые слова: крыса, глиобластома, штамм

Введение. ГБ – наиболее агрессивная и распространенная опухоль ЦНС у взрослых пациентов. ГБ Grade 4 (критерии ВОЗ CNS5, 2021) характеризуется высокой гетерогенностью и резистентностью к терапии. Для изучения ГБ наиболее часто используют опухолевые клеточные линии, однако они имеют ряд ограничений. На базе НИИ МЧ им. А.В. Авцына в 1970-х годах были получены различные тканевые штаммы глиом крыс, включая ГБ 101.8, 11-9-2 и 14-4-5, потенциально более релевантные опухолям ЦНС у человека.

Цель исследования – морфофункциональная и молекулярно-биологическая характеристика экспериментальных ГБ крыс 101.8, 11-9-2 и 14-4-5.

Материалы и методы. После перевивания опухолей самцам крыс линии Вистар (возраст 3 мес) было получено по 6 образцов ГБ каждого штамма, в качестве контроля использовали головной мозг интактных животных. Оценивали число митозов на стандартную площадь поля зрения (25 000 мкм²) и площадь некрозов в опухолевом узле. Проводили исследование экспрессии мРНК Cd2kna, Trp53, Pten, Hif1a, Pdgfra, Mgmt и Abcb1 методом ПЦР-РВ, оценивали содержание белка HIF1a методом вестерн-блота. Для статистической обработки данных использовали непараметрические критерии Краскелла–Уоллиса и Данна, при $p < 0,05$ различия считали значимыми.

Результаты. По сравнению со штаммами ГБ 11-9-2 и 14-4-5 ГБ 101.8 имела наименьший период роста опухоли от инокуляции до терминальной стадии (17 ± 2 суток) против 27 ± 2 суток у 11-9-2 и 35 ± 3 суток у 14-4-5, а также большей площадью некрозов и количеством митозов. Во всех штаммах высоко экспресировались ингибиторы клеточного цикла Cd2kna и Trp53. При этом Pten, ингибитор сигнального пути PI3K/ATK/mTOR, был снижен только в ГБ 101.8. Экспрессия мРНК фактора, индуцируемого гипоксией, Hif1a во всех штаммах не отличалась от контроля, однако содержание белка HIF1a было значительно выше в ГБ 101.8, чем в контроле и ГБ 11-9-2 и 14-4-5.

HIF1 α регулирует экспрессию Pdgfra, участвующего в усилении пролиферации, миграции и ангиогенеза, который был повышен только в ГБ 101.8. Низкая экспрессия гена *Mgmt*, что в клинической практике коррелирует с положительным ответом на терапию, наблюдалась в ГБ 14-4-5 и 11-9-2, но не 101.8. При этом усиление экспрессии гена ЛУ *Abcb1* наблюдалось в ГБ 101.8, но не в ГБ 11-9-2 и 14-4-5 и контроле.

Заключение. Таким образом, тканевый штамм ГБ крысы 101.8 соответствует Grade 4 по критериям ВОЗ CNS5, а ГБ 11-9-2 и 14-4-5 относятся к Grade 2–3. Высокая воспроизводимость делает их моделями выбора для дальнейших исследований прогрессии ГБ.

ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИИ РАЗНЫХ ТИПОВ ОПУХОЛЕВЫХ МИКРОСОСУДОВ, ПАРЕНХИМЫ И СТРОМЫ ОПУХОЛИ КАК НЕЗАВИСИМЫХ ПРЕДИКТОРОВ РЕГИОНАРНОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ И РИСКА РЕЦИДИВА ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

М.А. Сеньчукова^{1,2}, Е.А. Калинин², Н.Н. Волченко³

¹ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России, Оренбург;
²ГАОУ «Оренбургский областной клинический онкологический диспансер», Оренбург;
³МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва
e-mail: masenchukova@yandex.ru

Ключевые слова: плоскоклеточный рак легкого, рецидив, метастазы, строма опухоли, паренхима опухоли

Введение. Оценка риска регионарного метастазирования и риска рецидива заболевания имеет ключевое значение для выбора оптимальной тактики лечения пациентов с раком легкого (РЛ).

Цель исследования – оценить особенности морфологии опухолевых микрососудов, паренхимы и стромы опухоли, как независимых предикторов регионарного метастазирования и риска рецидива ПКРЛ.

Материалы и методы. Архивные парафиновые блоки 180 пациентов с ПКРЛ I–III стадий изучены в ретроспективном когортном исследовании «случай–контроль». Срезы окрашивали гематоксилином Майера и эозином, проводили ИГХ-исследование с использованием антител к CD34 и подоплатину. Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica 10.0.

Результаты. При ПКРЛ описаны и оценены следующие типы опухолевых микрососудов: нормальные микрососуды, дилатированные капилляры (ДК), атипичные ДК, ДК со слабой экспрессией CD34, ДК «контактного типа», структуры с частичной эндотелиальной выстилкой, капилляры в солидном компоненте опухоли и лимфатические сосуды в лимфоидных

и полиморфноклеточных инфильтратах. Также оценивали наличие рыхлой неоформленной соединительной ткани в строме опухоли, феноменов перитуморальной ретракции стромы опухоли и фрагментации солидного компонента опухоли, распространение опухоли в воздушные альвеолярные пространства. По данным многофакторного анализа независимыми предикторами риска метастазов ПКРЛ в регионарные ЛУ были центральный РЛ (ОШ 7,80, $p < 0,00001$), наличие капилляров (ОШ 2,72, $p = 0,023$) и фрагментации в солидном компоненте опухоли (ОШ 3,03, $p = 0,009$), а также перитуморальной ретракции стромы опухоли (ОШ 3,52, $p = 0,003$). На основании полученных данных разработан способ прогнозирования высокого риска метастазов ПКРЛ в регионарные ЛУ. Чувствительность, точность и специфичность метода составили 66,9; 68,9 и 72,9 % соответственно. Независимыми предикторами риска рецидива ПКРЛ были Grade 3 (ОШ 4,24, $p = 0,001$), N2 (ОШ 3,43, $p = 0,016$), наличие рыхлой неоформленной соединительной ткани в строме опухоли (ОШ 7,34, $p < 0,00001$) и фрагментации в солидном компоненте опухоли (ОШ 5,23, $p = 0,0001$), а также отсутствие распространения опухоли в воздушные альвеолярные пространства (ОШ 3,37, $p = 0,0083$). На основании полученных данных разработан способ прогнозирования высокого риска рецидива ПКРЛ, чувствительность, точность и специфичность которого составили 41,18; 71,10 и 97,89 % соответственно.

Заключение. Полученные данные могут быть полезны при оценке риска регионарного метастазирования и прогноза ПКРЛ.

ХАРАКТЕРИСТИКИ АННИГИЛЯЦИОННОЙ ЗАМЕДЛЕННОЙ ФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ РАЗЛИЧАЮТСЯ В РАКОВОЙ И НЕРАКОВОЙ ТКАНИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И КОРРЕЛИРУЮТ С УРОВНЕМ НЕЙТРОФИЛЬНОЙ ЭЛАСТАЗЫ 2

М.А. Сеньчукова^{1,2}, С.Н. Легута³, А.Т. Ишемгулов^{2,3},
Е.Ю. Зубарева^{1,2}, Н.В. Сайдлер²

¹ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России, Оренбург;
²ГАОУ «Оренбургский областной клинический онкологический диспансер», Оренбург;
³ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет», Оренбург
e-mail: masenchukova@yandex.ru

Ключевые слова: рак молочной железы, флюоресценция, опухоль

Введение. Ранее в эксперименте показано, что характеристики замедленной флюоресценции (ЗФ), возникающей при аннигиляции синглетного кислорода с молекулами ксантеновых красителей в триплетном состоянии (аннигиляционная ЗФ, АЗФ), достоверно различаются в здоровых и опухолевых тканях (Letuta S.N. et al., 2016).

Цель исследования — изучение возможности использования метода АЗФ для диагностики РМЖ и установление корреляции показателей АЗФ с клинико-морфологическими характеристиками РМЖ и уровнем нейтрофильной эластазы 2 (ELA-2) в сыворотке крови.

Материалы и методы. Изучены 163 образца тканей опухоли, краев резекции и подмышечных ЛУ, полученных от 81 пациентки с первичным РМЖ и не-раковой патологией молочных желез. Срезы тканей размером 3–5 мм окрашивали раствором сенсibiliзатора эритрозина. Для каждого образца регистрировали кинетику затухания длительной люминесценции эритрозина методом флэш-фотолиза. Уровень ELA-2 в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа.

Результаты. С помощью ROC-анализа установлены 5 характеристик АЗФ с высокой чувствительностью и специфичностью дискриминирующих образцы, содержащие и не содержащие ткань РМЖ: тест № 1 — изменение интегральной интенсивности АЗФ (площадь под кривой (AUC) = 0,786, cut-off = 0,897); тест № 2 — изменение интегральной интенсивности фосфоресценции (AUC = 0,749, cut-off = 1,229); тест № 3 — отношение начальных интенсивностей (кинетических кривых) замедленной флуоресценции и фосфоресценции (AUC = 0,744, cut-off = 4,242); тест № 4 — скорость изменения интегральной интенсивности АЗФ (AUC = 0,784, cut-off = 9,5); тест № 5 — максимальное (расчетное) снижение интегральной интенсивности АЗФ в сравнении с начальной (AUC = 0,757, cut-off = 0,85). Если в исследуемых образцах результат теста № 4 был <9,5, а теста № 5 <0,85, ткань РМЖ была верно подтверждена в 73,5 % случаев (чувствительность теста). При любых других комбинациях значений тестов № 4 и 5, метод в 89,8 % случаях верно подтверждал ткань, не содержащую клетки РМЖ (специфичность теста). Установлены негативные корреляции тестов № 2 и 3 с экспрессией рецепторов эстрогенов ($p = 0,004$ и $p = 0,0005$ соответственно) и позитивные корреляции теста № 3 с Ki-67 ($p = 0,005$). Уровень ELA-2 позитивно коррелировал со значениями тестов № 1 и 4 ($p = 0,03$ и $p = 0,01$).

Заключение. Метод АЗФ является перспективным для оценки статуса регионарных ЛУ и краев резекции при хирургическом лечении РМЖ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 23-25-00183, <https://rscf.ru/project/23-25-00183/>).

ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ РЕЦЕПТОРА ЭСТРОГЕНОВ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К МЕТФОРМИНУ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ MCF-7

Д. В. Сорокин^{1,2}, К. С. Семутников¹, А. М. Щербаков^{1,2},
М. А. Красильников^{1,2}

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

²ФГАОУ ВО «Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского», Нижний Новгород
e-mail: dsorokin2018@gmail.com

Ключевые слова: эстрогены, рак молочной железы

Введение. В настоящее время существует множество примеров, демонстрирующих формирование устойчивости к лекарственным препаратам опухолевыми клетками, культивируемыми *in vitro*. В том числе описан и опыт получения сублинии РМЖ MCF-7 резистентной к метформину — антидиабетическому препарату, обладающему выраженным противоопухолевым эффектом. Такие сублинии являются важными модельными объектами для исследования, поскольку помогают выявить ключевые белки, участвующие в формировании устойчивости к противоопухолевым препаратам.

Цель исследования — изучение основных характеристик метформин-резистентной сублинии клеток MCF-7/m, полученной в результате длительного культивирования (в течение 6 мес) родительских клеток MCF-7 в присутствии возрастающих концентраций метформина. Все последующие эксперименты проводились не ранее чем через 2 нед после отмены метформина и перевода клеток в стандартную культуральную среду.

Материалы и методы. Клеточные культуры (ATCC): РМЖ — чувствительный (MCF-7) и резистентный к метформину (MCF-7/m, сублиния получена авторами). Биологические методы: МТТ-тест, иммуноблоттинг, репортерный анализ.

Результаты. Мы показали, что сублиния MCF-7/m сохраняет устойчивость к цитостатическому действию метформина на протяжении не менее 6 мес культивирования в стандартной среде. При определении транскрипционной активности эстрогенового рецептора методом репортерного анализа установлено, что метформин вызывает выраженное подавление активности рецептора в родительских клетках MCF-7 и лишь незначительное снижение активности в метформин-резистентной сублинии MCF-7/m. Определение экспрессии одного из эстрогензависимых белков — GREB1 (Growth Regulation by Estrogen in Breast cancer 1) показало, что уровень эстрогензависимой индукции последнего значительно выше в резистентных клетках. Сравнительный анализ чувствительности клеток MCF-7 и MCF-7/m к антипролиферативному действию антиэстрогена тамоксифена продемонстрировал развитие

относительной устойчивости к тамоксифену в резистентных клетках MCF-7/m.

Заключение. В целом полученные данные свидетельствуют об усилении эстрогензависимой индукции GREB1 в метформин-резистентных клетках РМЖ. Дальнейшие исследования позволят продолжить изучение роли эстрогензависимых белков, в том числе GREB1, в развитии перекрестной резистентности клеток к метформину и тамоксифену и установить роль эстрогенового рецептора в формировании такой резистентности.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 19-15-00245, <https://rscf.ru/project/19-15-00245/>).

ДНК-СВЯЗЫВАЮЩИЕ МОТИВЫ В СОСТАВЕ БЕЛКОВ НУКЛЕОПРОТЕИНОВЫХ КОМПЛЕКСОВ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

С.Н. Тамкович, А.А. Шефер, Е.И. Джугашвили

ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск
e-mail: s.tamkovich@g.nsu.ru

Ключевые слова: белок, рак молочной железы, опухолевая внеклеточная ДНК

Введение. В настоящее время ведутся интенсивные исследования по разработке методов диагностики и прогноза ЗНО, а также оценке эффективности противораковой терапии на основе анализа циркулирующей в крови опухолевой внеклеточной ДНК (внДНК). Одним из наиболее серьезных препятствий для широкого внедрения в прикладную онкологию тестов на основе внДНК является неудовлетворительное соотношение сигнал/шум. Повысить чувствительность и специфичность «жидкостной биопсии» возможно путем выделения опухолевой внДНК, циркулирующей в крови больных в составе нуклеопротеиновых комплексов (НПК) за белковую компоненту.

Цель исследования — изучение идентификации ДНК-связывающих белков в составе НПК, циркулирующих в плазме крови условно здоровых женщин (ЗЖ) и больных РМЖ на начальных стадиях заболевания.

Материалы и методы. НПК из плазмы крови женщин выделяли аффинной хроматографией на сорбентах с иммобилизованными антителами против гистонов. Размер ДНК оценивали с помощью капиллярного электрофореза (Agilent Technologies Inc., США) с использованием High Sensitivity DNA Kit, белки идентифицировали методом масс-спектрометрии.

Результаты. Установлено, что у ЗЖ в составе гистонсодержащих НПК плазмы крови преобладает ДНК длиной 170–180 п. о., в то время как в НПК больных РМЖ представлены в равном количестве ДНК длиной 170–180 п. н. и более 6 тыс. п. н. Методом

MALDI-TOF-масс-спектрометрии с высокой достоверностью (score более 56) идентифицировано 177 белков и 169 белков в составе гистонсодержащих НПК, циркулирующих в крови ЗЖ и больных РМЖ соответственно. Для выявления белков, связывающих ДНК и нуклеотиды в составе НПК, идентифицированные белки анализировали с использованием QuickGO. Установлено, что со связыванием нуклеиновых кислот и нуклеотидов ассоциированы 113 (37 %) белков, из них 15 являются универсальными (39 % всех универсальных белков НПК). В составе уникальных белков НПК крови условно ЗЖ доля НК-связывающих белков составила 40 %, у больных РМЖ — 33 %. Для идентификации ДНК-связывающих доменов в выявленных ДНК-связывающих белках в составе НПК крови полученные протеомы исследовали с помощью веб-платформы Interpro и БД Interpro (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/>), PROSITE, Pfam (<http://pfam.xfam.org/>), SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) и CDD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/cdd.shtml>). В результате биоинформатического анализа было выявлено 38 типов ДНК-связывающих мотивов, наиболее представленными среди которых являются цинковые пальцы (C2H2, CCCH, PHD, C4, CXXC и RING типов), домены гомеобокса, KRAB, петля-поворот-петля и лейциновые застёжки.

Заключение. Полученные данные о циркулирующих ДНК-связывающих белках и мотивах в их составе могут быть использованы как в рамках диагностических методов для обогащения опухолевой внДНК, так и для улучшения мультимаркерных подходов за счет использования панелей маркеров данной ДНК и циркулирующих в комплексах с ней белков.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 22-25-00130).

ВЛИЯНИЕ УБИКВИТИН-ЛИГАЗЫ MDM2 НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЗМ В КЛЕТочНОЙ ЛИНИИ НЕМЕЛКОКЛЕТочНОГО РАКА ЛЕГКОГО ЧЕЛОВЕКА A549

Е.А. Фефилова, О.Ю. Шувалов

ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург
e-mail: e.fefilova@list.ru, oleg8988@mail.ru

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, убиквитин-лигаза MDM2

Введение. Убиквитин-лигаза MDM2 — основной негативный регулятор онкосупрессора p53. Известно, что помимо p53 MDM2 также оказывает значительное влияние на стабильность и количество белков — критических регуляторов клеточной судьбы: Rb, E2F1, p21, Snail, E-кадгерин, и т. д. Таким образом, MDM2-опосредованная регуляция может охватывать различные клеточные процессы — клеточный цикл, апоптоз, репарацию ДНК, сплайсинг, адгезию и т. д. В данном

исследовании мы показали влияние MDM2 на энергетический метаболизм.

Цель исследования — изучение влияния убиквитин-лигазы MDM2 на интенсивность гликолиза и дыхание, а также экспрессию ряда метаболических ферментов в клеточной модели НМКРЛ А549.

Материалы и методы. В нашем исследовании мы использовали клеточную линию А549 — аденокарциному легкого НМКРЛ человека, экспрессирующую р53 дикого типа. На основе данных клеток с использованием лентивирусной трансдукции мы создали 3 линии клеток: сверхэкспрессирующие белок MDM2 дикого типа (обозначен как MDM2), каталитически неактивный мутант MDM2 (Mut), а также контрольные клетки (несущие контрольный вектор рCDH). Мы исследовали влияние убиквитин-лигазы MDM2 на экспрессию генов, кодирующих некоторые ферменты гликолиза (LDHA, HK2, Aldoa, PGK1), а также их важнейший регулятор — транскрипционный фактор с-Мус. Для оценки влияния MDM2 на экспрессию мы использовали ПЦР-РВ и иммуноблоттинг. Оценку мембранного потенциала митохондрий проводили с использованием проточной цитометрии с флуоресцентным агентом MitoTracker. Анализ интенсивности гликолиза и дыхания был проведен с использованием технологии метаболического профилирования Seahorse.

Результаты. Мы обнаружили, что сверхэкспрессия MDM2 дикого типа приводит к увеличению мембранного потенциала митохондрий, интенсификации гликолиза и дыхания, а также увеличению ряда ферментов гликолиза на уровне белка. В случае сверхэкспрессии каталитически неактивного белка (С464А) MDM2 подобных эффектов не выявлено.

Заключение. MDM2 повышает энергетический метаболизм клеточной модели НМКРЛ А549, причем данный эффект зависит от каталитической активности MDM2. В дальнейших исследованиях крайне важно понять, зависит ли полученный результат от статуса р53. Полученные данные могут быть полезны в контексте противоопухолевой терапии, направленной на ингибирование взаимодействия MDM2–р53.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 21-75-10138).

ВЛИЯНИЕ ЦИРКУЛИРУЮЩЕЙ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК НА ИНВАЗИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ МЕЛАНОМЫ МЫШИ

А.А. Филатова^{1,2}, Л.А. Алексеева¹, Н.Л. Миронова¹

¹ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск;

²ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск

e-mail: a. filatova2@g.nsu.ru

Ключевые слова: внеклеточная ДНК, меланома, онкогенез

Введение. Внеклеточная ДНК (внДНК) опухолевого происхождения, циркулирующая в кровотоке организма-опухоленосителя, представляет особый интерес, поскольку может проникать в нормальные клетки и вызывать их трансформацию. ВнДНК, генерируемая клетками опухолевого микроокружения, также способна вызывать изменения, приводящие к формированию премеагастатической ниши, благоприятной для развития метастазов.

Цель исследования — изучение биологических эффектов внДНК, продуцируемой клетками меланомы В16 мыши (В16-внДНК) и нетрансформированными фибробластами L929 мыши (L929-внДНК) на клетки меланомы В16 *in vitro* и *in vivo*.

Материалы и методы. *In vitro* клетки В16 инкубировали с В16-внДНК и L929-внДНК, выделенной из кондиционной среды клеток В16 и L929, и исследовали их жизнеспособность, миграцию и экспрессию ряда генов. *In vivo* клетки В16 после инкубации с внДНК вводили подкожно для развития первичного опухолевого узла (модель I) или внутривенно мышам С57В1 для формирования метастазов в легких (модель II).

Результаты. *In vitro* было показано снижение жизнеспособности и миграции клеток В16 под действием В16-внДНК и повышение их инвазии в присутствии L929-внДНК. Обнаружено достоверное повышение экспрессии генов *Raf1*, *Dnase1*, *DnaseX*, *Endog*, *Icam* в клетках В16 в присутствии L929-внДНК.

In vivo клетки В16, обработанные L929-внДНК, характеризовались более высокой скоростью роста опухолевого узла (модель I) и увеличением количества метастазов (модель II). Обработка клеток В16 В16-внДНК приводила к уменьшению опухолевого узла и количества метастазов в моделях I и II соответственно.

Заключение. ВнДНК клеток меланомы и фибробластов оказывает различное воздействие на опухолевые клетки: внДНК фибробластов стимулирует инвазивный потенциал опухоли, а аутологичная внДНК меланомы его подавляет. Представлено доказательство, что фибробласты, являющиеся частью опухолевого окружения, могут вносить вклад в стимуляцию роста опухоли за счет внДНК.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 22-14-00289).

ИЗМЕНЕНИЕ ПОЛЯРИЗАЦИИ ФЕНОТИПА ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫХ МАКРОФАГОВ У ПАЦИЕНТОВ С ТРИЖДЫ НЕГАТИВНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ДИНАМИКЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ЛЕЧЕНИЯ

А.А. Фролова^{1,2}, Т.С. Герашенко¹, М.Р. Патышева^{1,2},
А.А. Федоров¹, В.Ю. Коробейников¹, Е.Ю. Гарбуков¹,
О.Д. Брагина¹, М.А. Вострикова¹, Н.В. Чердынцева^{1,2}

¹НИИ онкологии ФГБНУ «Томский НИМЦ РАН», Томск;
²ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский
Томский государственный университет», Томск
e-mail: anastasiya10152@gmail.com

Ключевые слова: опухлеассоциированные макрофаги, рак молочной железы, химиотерапия, секвенирование единичных клеток

Введение. Опухлеассоциированные макрофаги (ОАМ) являются важнейшим компонентом микроокружения трижды негативного рака молочной железы (ТНРМЖ). Показано, что ОАМ участвуют в реализации эффекта химиотерапии, влияя на параметры роста и прогрессию опухоли. Механизмы взаимодействия ОАМ с противоопухолевыми препаратами, определяющие эффективность лечения, изучены недостаточно.

Цель исследования — охарактеризовать транскрипционный профиль ОАМ в динамике противоопухолевого лечения РМЖ.

Материалы и методы. Биопсийные образцы опухолевой ткани были получены от 15 пациенток с ТНРМЖ с полной и частичной морфологической регрессией до начала лечения, на 3-и и 21-е сутки после проведения 1 курса НХТ. Анализ транскриптома проводился методом секвенирования единичных клеток на платформе GenoLab M (GeneMind Biosciences, Китай) по технологии фиксирования и мультиплексирования единичных клеток Chromium Fixed RNA (10x Genomics, США). Полученные данные были обработаны и проанализированы с помощью программ Seurat и SingleR.

Результаты. В опухолевой ткани идентифицированы две основные популяции ОАМ: провоспалительные M1 (CD80⁺CD86⁺TNF α ⁺) и противовоспалительные M2 (CD163⁺ CD206⁺TGF β ⁺). В ходе НХТ увеличивалось количество M1 (с 0,7 до 1,8 %, $p = 0,07$) и M2 (с 8,9 до 13,9 %, $p = 0,004$) макрофагов. В ходе ХТ для M2 макрофагов наблюдалась тенденция к изменению поляризации. Так, до терапии и на 3-и сутки после наблюдалась повышенная экспрессия генов, вовлеченных в формирование противовоспалительного фенотипа CD163, APOE, TNFBF1. К 21-м суткам после НХТ была обнаружена гиперэкспрессия генов CSF1R, TLR7, TLR9, DUSP7, TNFAIP, регулирующих секрецию цитокинов и активацию TLR сигнальных путей, участвующих в формировании провоспалительного фенотипа. Анализ траектории развития макрофагов также показал изменение поляризации макрофагов с противо-

спалительного CD163⁺ фенотипа на провоспалительный CD14⁺ к 21-м суткам после НХТ. Стоит отметить, что на всех точках исследования наблюдалась гиперэкспрессия генов системы комплемента, участвующих в поддержании фагоцитарной активности макрофагов (CQ1A, CQ1B, CQ1C).

Заключение. НХТ приводит к изменениям транскриптного профиля ОАМ в сторону провоспалительного фенотипа у больных ТНРМЖ с полной и частичной морфологической регрессией.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 22-75-10128).

ИЗБИРАТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТОВ ПЛАТИНЫ НА ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ДЕФИЦИТОМ ГОМОЛОГИЧНОЙ РЕКОМБИНАЦИИ

А.А. Фролова^{1,2}, М.К. Ибрагимова^{1,3}, М.М. Цыганов^{1,3}

¹НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН, Томск;
²ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский
Томский государственный университет», Томск;
³ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский
университет» Минздрава России, Томск
e-mail: anastasiya10152@gmail.com

Ключевые слова: дефицит гомологичной рекомбинации, рак молочной железы, химиотерапия

Введение. Формирование BRCA-подобных опухолей молочной железы возможно за счет наличия дефицита гомологичной рекомбинации (ГР), которая обусловлена мутациями в генах ГР. Известно, что ХТ может инициировать реверсию и восстановление функциональной активности в генах ГР, которые связаны с развитием лекарственной устойчивости (Zong et al. J Cancer 2022).

Цель исследования — изучение изменения экспрессии и aberrаций числа копий ДНК основных генов ГР в опухолях молочной железы.

Материалы и методы. Образцы опухолевого материала были получены от 15 пациентов с РМЖ ПА–IIIВ стадии до лечения, на 7-е и 21-е сутки после ХТ и после операции. Для анализа aberrаций числа копий проводился микроматричный анализ на ДНК-чипах. Уровень экспрессии генов оценивался при помощи ОТ-ПЦР. Для создания модели химиорезистентности *in vitro* использовались клеточные линии как с дефицитом гомологичной рекомбинации (MDA-MB-231), так и без (MDA-MB-468). Клетки культивировались в стандартных условиях с использованием цисплатина в концентрации 40 мкг/мл (LD₅₀).

Результаты. Оценка экспрессионного профиля генов ГР показала наличие статистической связи с эффективностью НХТ экспрессии CHEK1 и PARP1. Высокий уровень данных генов до лечения сопряжен с прогрессированием опухоли ($p = 0,006$ и $p = 0,04$ соответственно), чего не наблюдалось на 7-е и 21-е сутки.

В операционном материале обнаружена корреляция гиперэкспрессии генов *CHEK1*, *PARP1*, *RAD51D* и *BRCA1* с опухолевой прогрессией ($p < 0,01$) на фоне корреляции гипоекспрессии с частичной регрессией ($p < 0,01$). Анализ хромосомных aberrаций показал, что в группе пациентов с прогрессированием опухоли в 83 % случаев наблюдается появление амплификаций в генах *BARD1*, *CHEK1*, *CHEK2*, *RAD51B*, *RAD51D*, *BRCA1* либо восстановление нормальной копийности. Напротив, возникновение делеции в этих генах и *PALB2* определяло формирование объективного ответа на лечение. При создании химиорезистентных клонов *in vitro* было обнаружено, что устойчивость к цисплатину коррелирует с отсутствием делеций в генах ГР, в частности в генах *BRCA1* и *PALB* ($p < 0,01$).

Заключение. ХТ приводит к изменению наличия хромосомных aberrаций, связанных с формированием резистентности опухоли к противоопухолевым препаратам.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 22-15-00169).

СВЯЗЬ АКТИВНОСТИ P53-ЗАВИСИМОГО ПУТИ АКТИВАЦИИ АПОПТОЗА С ХЕМОРЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ В САРКОМАХ МЯГКИХ ТКАНЕЙ

С.А. Хазанова^{1,2}, Е.А. Трапезникова³, В.Ю. Зиновьева¹, В.И. Маршалл¹, А.А. Ловенгер¹, А.А. Тарарыкова¹, А.Ю. Бохян¹, К.И. Кирсанов^{1,2}, М.Г. Якубовская¹, Т.И. Фетисов¹

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

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

³ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва
e-mail: timurfetisov@yandex.ru

Ключевые слова: саркома мягких тканей, апоптоз

Введение. Саркомы мягких тканей (СМТ) – группа редких ЗНО соединительной ткани. ХТ доксорубицином (Докс), ифосфамидом (Ифо), гемцитабином (Гем), доцетакселом (Доц) и пазопанибом (Пазо) является одним из ключевых подходов в лечении СМТ. Наличие и развитие ЛУ существенно осложняет терапию сарком, что актуализирует изучение механизмов, обуславливающих ее развитие и поиск прогностических маркеров. Ранее в нашем исследовании была выявлена связь мутаций в p53-зависимом пути активации апоптоза с хеморезистентностью в СМТ.

Цель исследования – сопоставление данных по экспрессии генов/белков участников p53-зависимого пути активации апоптоза с результатами теста на хеморезистентность, полученными в тестах *in vitro* и клиническими данными о пациентах.

Материалы и методы. Из 48 образцов СМТ методом диссоциации были получены первичные культуры

опухолевых клеток. Чувствительность клеток к Докс, Ифо, Доц, Гем, Пазо определяли с использованием резазурина. В этих же образцах методом ПЦР-РВ была проанализирована экспрессия генов *PUMA*, *PMAIP-1*, *PIDD1*, *AIFM2*, *Bax*, *GADD45a*. Методом вестерн-блоттинга было оценено количество белка.

Результаты. При сопоставлении данных по экспрессии исследуемых генов с результатами теста на хеморезистентность было выявлено, что экспрессия генов *GADD45a*, *BAX* и *PIDD-1* коррелировала с резистентностью к Докс и Пазо. В группе опухолей с низкой дифференцировкой была выявлена корреляция экспрессии генов *AIFM2*, *GADD45a* и *PIDD-1* с резистентностью к Доц, Докс, Ифо и их комбинации. В группе СМТ высокой дифференцировки была выявлена корреляция экспрессии *PMAIP-1*, *BAX* и *PUMA* с резистентностью к Докс, Ифо и их комбинации и Гем. При сопоставлении данных по количеству белка с результатами теста было выявлено, что в СМТ количество *BAX* и *PUMA* коррелирует с резистентностью к Док, Доц, Гем и их комбинации. В группе высокой дифференцировки количество *BAX* и *PUMA* также коррелировало с резистентностью к Док, Доц, Гем и их комбинации. В группе низкой дифференцировки помимо уже обнаруженных в общей группе СМТ корреляций, была выявлена корреляция количества PMAIP1 с резистентностью к комбинации Докс и Ифо.

Заключение. Таким образом было показано, что гены и кодируемые ими белки, регулирующие p53-зависимую активацию апоптоза связаны с развитием хеморезистентности в СМТ. В связи с тем, что в ХТ СМТ активно используют именно комбинации лекарственных средств, наиболее перспективными являются следующие маркеры: экспрессия гена *AIFM2* в дальнейшем может быть интересна как прогностический маркер ответа на комбинацию Докс и Ифо, а экспрессия гена *PIDD-1* – для прогноза ответа на Пазо. Количество белка *BAX* может быть интересно как прогностический маркер ответа на комбинацию Доц и Гем, а количество белка *PMAIP-1* – для прогноза ответа на первую линию ХТ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 22-75-00100).

ВЛИЯНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО НМGB1 НА ФОРМИРОВАНИЕ ПРООПУХОЛЕВОГО ФЕНОТИПА ФИБРОБЛАСТОВ

Л.А. Хамаев, М.А. Микеладзе, Б.А. Маргулис, И.В. Гужова
ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург
e-mail: lhamaev47@gmail.com

Ключевые слова: фибробласты, микроокружение, НМGB1

Введение. В современной онкологии все больше внимания уделяется микроокружению опухоли. Одним

из типов клеток, составляющих микроокружение опухоли, являются опухолеассоциированные фибробласты (ОАФ), характеризующиеся большей пролиферативной и миграционной активностью, синтезом ММР и фактором роста, которые способствуют инвазии опухолевых клеток и стимулируют их устойчивость к химиопрепаратам. Несмотря на большое количество данных о перестройке фенотипа фибробластов, вопрос точного механизма активации ОАФ остается открытым. Одним из факторов, влияющих на преобразование здоровых фибробластов, является воздействие белков класса DAMP, высвобождающихся из опухолевых клеток во время терапии. В нашей работе мы сосредоточились на одном из таких белков, а именно HMGB1 и его роли в активации ОАФ.

Цель исследования — роль белка HMGB1 в формировании проопухолевого фенотипа ОАФ.

Материалы и методы. В работе использовали клетки аденокарциномы легкого — A549, несущие ген люциферазы. В качестве модели ОАФ — фибробласты человека DF1 и DF2, обработанные кондиционными средами (КС) от опухолевых клеток. Для определения чувствительности аденокарциномы к действию химиотерапевтических препаратов использовали люциферазный тест. Накопление HMGB1 в клетках и КС определяли методом вестерн-блоттинга. Миграционную активность фибробластов фиксировали с помощью системы xCelligence, а выраженность фенотипа ОАФ анализировали по уровню экспрессии генов-маркеров с использованием ПЦР-РФ.

Результаты. Совместная культивация фибробластов с клетками аденокарциномы легкого значительно снижала чувствительность последних к этопозиду и цисплатину. Также мы установили, что миграционная способность здоровых клеток активируется после их инкубации с КС, полученной от A549. Кроме того, мы зарегистрировали значительное увеличение экспрессии генов-маркеров ОАФ, во время инкубации с КС, полученной от опухолевых клеток после воздействия цисплатина. С помощью метода вестерн-блоттинга мы определили, что HMGB1 накапливается как в клетках A549, так и в их КС после воздействия цисплатина. Инкубация фибробластов в присутствии рекомбинантного HMGB1 приводила к многократному увеличению экспрессии маркеров ОАФ, что говорило о прямой зависимости между воздействием белка и фенотипом фибробластов.

Заключение. Белок HMGB1, высвобождающийся во внеклеточное пространство во время терапии, активирует фенотип ОАФ в здоровых фибробластах линий DF1 и DF2.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ ПРИ ПРОСТАТИЧЕСКОЙ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ НЕОПЛАЗИИ

Е.А. Черногубова¹, М.И. Коган^{1,2}, М.Б. Чибичян²,
А.В. Аветян²

¹ЮНЦ РАН, Ростов-на-Дону;

²ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону
e-mail: eachernogubova@mail.ru

Ключевые слова: простатическая интраэпителиальная неоплазия, рак предстательной железы, ренин-ангиотензиновая система

Введение. Простатическая интраэпителиальная неоплазия (ПИН) — морфологический предшественник рака предстательной железы (РПЖ) с высокой вероятностью злокачественной трансформации. В предстательной железе (ПЖ) хроническое воспаление ассоциировано с пролиферативной воспалительной атрофией. Ренин-ангиотензиновая система представляет физиологический путь, способствующий пролиферации опухолевых клеток, ангиогенезу и воспалительной реакции в опухолевой ткани.

Цель исследования — анализ молекулярных механизмов злокачественной трансформации ПЖ.

Материалы и методы. В исследование включено 52 пациента, которым была выполнена трансректальная биопсия ПЖ. Первая группа — 22 пациента с РПЖ, выявленным при первичной (систематической) биопсии ПЖ, 2-я группа — 19 пациентов, у которых РПЖ выявлен при повторной биопсии, выполненной на основании выявленной ПИН-3 при первичной биопсии ПЖ. В секрете ПЖ определяли ингибиторную активность α_1 -протеиназного ингибитора (α_1 -ПИ) и α_2 — макроглобулина (α_2 -МГ), активность ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), в ткани ПЖ оценивали экспрессию рецепторов ангиотензина II типа (AT2-R).

Результаты. С целью оценки уровня воспаления в ПЖ при ПИН и РПЖ проведен анализ ингибиторной активности поливалентных ингибиторов протеиназ — α_1 -ПИ и α_2 -МГ. Показано, что ингибиторная активность α_1 -ПИ в секрете ПЖ при РПЖ выше, чем при ПИН. Ингибиторная активность α_2 -МГ в секрете ПЖ при ПИН не отличается от таковой в контрольной группе, а при РПЖ — значительно возрастает. При ПИН дисбаланс антипротеолитической защиты в секрете ПЖ выражен сильнее, чем при РПЖ, что, по-видимому, является предпосылкой онкогенной трансформации ПЖ. Установлено также, что активность АПФ в секрете и экспрессия AT2-R в ткани ПЖ при ПИН выше, чем при РПЖ.

Заключение. Таким образом, увеличение активности α_1 -ПИ, дефицит AT2-R являются метаболической основой злокачественной трансформации ПЖ. Уровни активности α_1 -ПИ и АПФ в секрете ПЖ и экспрессии

AT2-R в ткани ПЖ при первичной биопсии могут являться прогностическими маркерами опухолевой прогрессии. Знание сложного «молекулярного ландшафта», связанного с хроническим воспалением при РПЖ, может привести к разработке новых методов лечения РПЖ.

Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках ГЗ ЮНЦ РАН (№ 122020100304-5).

СВЯЗЬ СОСТАВА ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМИ НАРУШЕНИЯМИ, АНГИОГЕНЕЗОМ И ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ ТЕРМОРАДИОТЕРАПИИ

**Н. В. Юнусова, Д. А. Сваровкий, А. И. Коновалов,
И. В. Кондакова, Ж. А. Старцева**

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет»

Минздрава России, Томск;

НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН, Томск

e-mail: bochkarevanv@oncology.tomsk.ru

Ключевые слова: внеклеточные везикулы, колоректальный рак, ангиогенез, терморрадиотерапия

Введение. У большинства больных КРР опухоль развивается на фоне метаболически здорового ожирения или метаболического синдрома. Сверхэкспрессия MMP2/MMP9 после инкубации реципиентных опухолевых клеток с внеклеточными везикулами (EVs) от облученных донорских клеток считается одним из основных механизмов нецелевых эффектов лучевой терапии. Роль внеклеточных и везикулярных форм белков теплового шока (HSPs) также обсуждается в механизмах ЛТ и эффективности.

Цель исследования – изучение уровней матриксных металлопротеиназ (MMPs) и HSPs на поверхности CD9-позитивных и FABP4-позитивных sEVs плазмы крови у больных КРР в зависимости от метаболического статуса, ангиогенеза, а также оценка sEVs в качестве предикторов эффективности терморрадиотерапии.

Материалы и методы. Циркулирующие везикулы выделялись методом ультрафильтрации с двойным ультрацентрифугированием. Субпопуляции везикул оценивались методом проточной цитометрии. Спектр метаболических изменений оценивали в соответствии с рекомендациями IDF (2005). Эффективность терморрадиотерапии оценивалась по данным МРТ и подтверждалась морфологическим исследованием. Экспрессия VEGF-A и плотность микрососудов в первичной опухоли оценивалась с использованием ИГХ-анализа.

Результаты. У больных КРР по сравнению с пациентами с колоректальными полипами среди FABP4-позитивных sEVs (везикулы адипоцитарного происхождения) значительно увеличилась доля трижды положительных sEVs и sEVs с фенотипом MMP9+MMP2-TIMP1+, что в целом может свидетельствовать о гиперэкспрессии MMP9 и TIMP1 адипоцитами или макрофагами жировой ткани при КРР. Полученные результаты имеют перспективы использования в качестве маркеров для уточнения онкологического риска у больных с полипами с метаболическими нарушениями. У больных КРР с метаболическим синдромом или метаболически здоровым ожирением именно FABP4+MMP9+MMP2-TIMP1-популяция циркулирующих sEV является наиболее оптимальным биомаркером, отражающим ангиогенез опухоли. Определение этой популяции в крови будет полезно при наблюдении за пациентами после лечения для раннего выявления опухолевой прогрессии. Субпопуляции CD9+MMP9+MMP2-TIMP1- и MMP9+MMP2-TIMP1+ циркулирующих sEV являются наиболее многообещающими предикторами эффективности терморрадиотерапии, поскольку их исходные уровни значительно различаются у больных раком прямой кишки с различным ответом опухоли.

Заключение. Выявлена связь состава циркулирующих внеклеточных везикул у больных КРР с метаболическими нарушениями, ангиогенезом в первичной опухоли и эффективностью терморрадиотерапии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 23-25-00085, <https://rscf.ru/project/23-25-00085/>).

Молекулярная диагностика опухолей

МАЛОИНВАЗИВНАЯ ДИАГНОСТИКА ГЛИОБЛАСТОМ: ОТ БИОИНФОРМАЦИОННОГО АНАЛИЗА К АПРОБАЦИИ НА БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ

И.Г. Алексеев

ООО «Ген-Ом+», Екатеринбург
e-mail: alex23_12@rambler.ru

Ключевые слова: глиобластома, диагностика, микроРНК

Введение. Глиомы – наиболее распространенные инвазивные опухоли мозга, характеризующиеся высокими уровнями смертности и рецидивирования. Для проведения диагностики обычно необходим гистологический образец, который не всегда охватывает морфологическую и молекулярную гетерогенность опухоли или не доступен из-за локализации. Соответственно, создание малоинвазивной панели для выявления бластоматозного процесса в центральной нервной системе является актуальным.

Цель исследования – разработка панели для дифференциальной диагностики глиобластом (ГБ) на основе циркулирующих в крови микроРНК.

Материалы и методы. Исследование состояло из 2 этапов: поискового и валидационного. Поисковый этап включал биоинформационный анализ данных NGS по микроРНК в плазме крови 36 пациентов с HGG-глиомами и 96 здоровых доноров. Для поиска маркеров LGG-глиом проведен обзор. Для получения данных секвенирования микроРНК в формате fasta использовалась база GEO. Разработка классификаторов на основе алгоритмов RF и KNN проводилась в caret на R 4.0.4. Валидационный 2-й этап включал определение методом ПЦР микроРНК в образцах плазмы 60 пациентов с глиальной опухолью и 20 здоровых доноров. Для разработки классификатора на основе данных ПЦР использовался пакет graft в среде R.

Результаты. С использованием SRA отобраны данные секвенирования микроРНК условно здоровой группы ($n = 96$) и пациентов с ГБ ($n = 35$). Профилирование микроРНК выполнено с использованием sRNAbench, а анализ дифференциальной экспрессии – с использованием DESeq2. Биоинформационный анализ выделил 945 дифференциально экспрессирующихся микроРНК, из которых 502 демонстрировали статистическую значимость ($padj < 0,05$), но лишь 101 микроРНК были с относительной экспрессией ($\log_2 > 1$). Использование алгоритма «ансамбль решающих де-

ревью» выявило наиболее значимые микроРНК – miR-5010-5p, miR-182-5p, miR-758-3p, miR-96-5p, miR-133a-5p, miR-3180-3p, miR-6782-5p, miR-1304-5p, miR-3937, miR-100-5p, miR-1182-3p, miR-113b, miR-670-3p, miRNA-342-3p, miR-21-5p. Для ПЦР-данных по микроРНК диагностическая панель была создана с привлечением алгоритма машинного обучения «дерево решений». Установлено, что Ct miR-21-5p $> 1,7$ дифференцируют группу сравнения от контрольной и основной групп; значение miR-342-3p является пограничным для дифференцировки контрольной от основной группы. Для дифференцировки основной группы от контрольной также можно использовать miR-3180-3p.

Заключение. Доказан потенциал miR-21-5p, miR-3180-3p и miR-342-3p для диагностики глиальных опухолей.

РЕГИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ДИАГНОСТИКИ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ *BRCA 1/2* У ПАЦИЕНТОВ С РАКОМ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

В.Е. Аскарлов, А.В. Султанбаев, К.В. Меньшиков,
Ш.И. Мусин, Н.И. Султанбаева, И.А. Меньшикова
ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический
диспансер» Минздрава РБ, Уфа
e-mail: ufa.askarov@gmail.com

Ключевые слова: *BRCA1*, *BRCA2*, *BRCA1/2*, *BREAST CANCER GENES 1* и *2*, гены-супрессоры

Введение. РМЖ является наиболее распространенным ЗНО у женщин во всем мире. Примерно у 1 из 12 женщин на Западе в какой-то момент жизни развивается РМЖ. По разным оценкам, 9 % всех случаев РМЖ у женщин связаны с наследственной восприимчивостью из-за мутаций в аутосомно-доминантных генах. Ключевыми факторами, связанными с высоким риском РМЖ, являются мутации в *BRCA 1/2*. Другая важная мутация может возникнуть в гене *TP53*, что приводит к трижды негативному РМЖ. Однако подавляющее большинство случаев РМЖ связано не с мутированным геном высокой пенетрации, а с генами низкой пенетрации, такими как *CHEK2*, которые часто мутируют в общей популяции.

Цель исследования – выявление и изучение *BRCA1/2* мутаций у пациентов с РМЖ, а также здоровых лиц с группой риска.

Материалы и методы. Произведен забор крови у пациенток с ЗНО молочной железы, а также у группы здоровых лиц с группой риска. Проведено общее количество исследований у 576 человек за 2022 г., из них с риском заболевания — 46 человек. Преимущественный метод исследования — ПЦР (551 исследование), метод NGS использовали в 25 случаях.

Результаты. По результатам исследований выявлено 80 мутаций у исследуемых с РМЖ, из них BRCA1—78, BRCA2—2 (BRCA2 с.-39-1_-39delGA [rs758732038]). У группы здоровых лиц с группой риска мутаций в генах BRCA1/2 не выявлено, но выявлены 2 мутации CHEK2.

Заключение. Исходя из этого исследования можно сделать вывод, что среди исследуемых с РМЖ было выявлено достаточно большое количество мутаций (~21 %), причем большинство из них относились к гену BRCA1. В то же время у группы здоровых лиц с группой риска мутаций было выявлено 2 мутации CHEK2 del5395, что говорит о том, что наличие мутаций в генах BRCA1 и BRCA2 может быть связано с повышенным риском развития РМЖ.

АПТАМЕРЫ К ПОВЕРХНОСТНЫМ АНТИГЕНАМ EGFR И CD133 ДЛЯ ТЕРАНОСТИКИ КУЛЬТУР КЛЕТОК ГЛИБЛАСТОМ ПАЦИЕНТОВ

О.М. Антипова¹, В.Л. Моисеенко¹, Б.М. Иванов¹,
Ф.М. Дзариева², Е.А. Савченко³, Н.С. Самойленкова³,
И.Н. Пронин², Г.В. Павлова^{2,3}, А.М. Копылов¹

¹ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва;

²Институт высшей нервной деятельности
и нейрофизиологии РАН, Москва;

³НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко, Москва
e-mail: antipovachem@gmail.com

Ключевые слова: аптамеры, глиобластома, клетка

Введение. Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) суперэкспрессирован во многих клетках ГБ. CD133 — маркер-кандидат стволовых и прогениторных клеток ГБ. Обычно EGFR и CD133 детектируют с помощью антител. К этим антигенам получены аптамеры, «химические антитела», — это олигонуклеотиды со специфическим сродством к мишеням. Аптамеры много меньше антител по размерам, они стабильнее, в них относительно просто направленно вводить флуоресцентные метки и противоопухолевые агенты.

Цель исследования — разработка аптагераностики для EGFR и CD133 на культурах клеток ГБ пациентов.

Материалы и методы. Аптамеры к EGFR: 2'-F-пиримидин-нуклеотид-РНК ME07 и CL4; ДНК U2, U31, оригинальные авторские G01 и GR20. Аптамеры к CD133: 2'-F-пиримидин-нуклеотид-РНК A15; ДНК Ap1M и Ap2, Cs1 и Cs5. Проточной цитометрией и флуоресцентной микроскопией исследовали взаимодействие аптамеров с линейными клетками и перевиваемыми культурами клеток ГБ пациентов. С помощью

exCelligence в реальном времени измеряли жизнеспособность клеток после обработки оригинальной аптамерной нековалентной конструкцией с интеркалированным доксорубицином.

Результаты. Аптамеры к EGFR взаимодействуют с линейными клетками EGFR+ A431 и U87. Взаимодействуют с клетками перевиваемых культур опухоли ГБ пациентов Sus, G01, 90, 107. Культура клеток Sus необычна и взаимодействует с олигонуклеотидами независимо от рецептора — видимо, это новый тип клеток ГБ. Собрана оригинальная аптамерная нековалентная ДНК-конструкция для доставки доксорубицина в культуру клеток ГБ пациента Sus. ДНК-конструкция изменяет кинетику и, возможно, механизм доставки доксорубицина. Аптамеры к CD133: взаимодействуют с линейными клетками CD133+ Saso-2 и НТС116. Взаимодействуют с клетками перевиваемых культур опухоли ГБ пациентов: 1548, 1721, 1793. Культура клеток 1793 необычна и взаимодействует с олигонуклеотидами независимо от рецептора — видимо, это новый тип клеток ГБ.

Заключение. Флуоресцентные производные аптамеры к EGFR и CD133 взаимодействуют с линиями клеток и перевиваемых культур клеток из ГБ пациентов при наличии антигенов. Для аптадиагностики тестируемая культура клеток ГБ должна давать флуоресцентный сигнал с аптамером, но при этом сигнал с неаптамерным олигонуклеотидом должен отсутствовать. Из аптамера можно собирать нековалентные конструкции для доставки доксорубицина в клетки ГБ.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2021-1343 от 04.10.2021).

ПОТЕНЦИАЛ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРОРНК В СОСТАВЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

О.Е. Брызгунова^{1,2}, П.П. Лактионов^{1,2}, Е.А. Мурина²,
Е.В. Шутко^{2,3}, М.М. Сайткулова^{2,3}, И.А. Остальцев¹,
С.Э. Красильников¹, В.В. Козлов⁴, Ю.А. Лансхуй¹,
С.В. Пак¹, М.Ю. Коношенко^{1,2}

¹ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава
России, Новосибирск;

²ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной
медицины» СО РАН, Новосибирск;

³ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский
государственный университет», Новосибирск;

⁴ГБУЗ НСО «Новосибирский областной клинический онкологический
диспансер», Новосибирск
e-mail: olga.bryzgunova@niboch.nsc.ru

Ключевые слова: внеклеточная везикула, онкологическое заболевание

Введение. Эффективное выявление онкологических заболеваний на ранних стадиях развития позволит значительно повысить выживаемость и качество жизни пациентов. Опухольеспецифические микроРНК являются потенциальным источником онкомаркеров в связи с изменением уровня их экспрессии в биологических жидкостях организма при развитии онкозаболеваний.

Цель исследования — проанализировать известные и получить новые данные относительно диагностического потенциала aberrантной экспрессии онкоспецифических микроРНК внеклеточных везикул биологических жидкостей при развитии онкологических заболеваний легкого и предстательной железы и сформировать пилотные панели микроРНК, пригодные для диагностики РЛ и РПЖ.

Материалы и методы. Из образцов плазмы крови и бесклеточного супернатанта мочи здоровых доноров, больных РЛ, РПЖ и доброкачественной гиперплазией предстательной железы, методом агрегации — преципитации были получены фракции внеклеточных везикул. Далее из фракций внеклеточных везикул выделяли микроРНК и методом петлевой ОТ-ПЦР определяли их концентрацию.

Результаты. Согласно данным литературы и на основании результатов, полученных нами, известно, что фракция внеклеточных везикул биологических жидкостей представляет собой наиболее перспективный источник диагностически значимых микроРНК: при использовании данных попарного сравнения уровня экспрессии микроРНК во фракциях внеклеточных везикул было обнаружено существенно больше диагностических пар микроРНК, чем в плазме крови и бесклеточном супернатанте мочи. Часть микроРНК, взятых в дальнейшее исследование, оказались «универсальными для развития РЛ и РПЖ (30e, 125b, 660, 31, 425), другая часть — специфическими (для РЛ — 374a, 133, 222 и для РПЖ — 200b, 205, 375, 19b, 92a, 378, 22). Сочетание наиболее эффективных выявленных пар микроРНК может классифицировать пациентов с РПЖ, доброкачественной гиперплазией предстательной железы и здоровых доноров, а также пациентов с РЛ и здоровых доноров со 100 % чувствительностью при 100 % специфичности и, более того, с высокой избыточностью для большинства доноров.

Заключение. В дальнейшем, после подтверждения полученных результатов клиническими испытаниями, ввиду отсутствия необходимости использования сложных методов и оборудования разработанные диагностические панели маркеров на РЛ и РПЖ могут быть использованы в клинических лабораториях разного уровня оснащенности и персоналом различной квалификации.

Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках государственного задания Минздрава РФ (№ 121031300227-2).

ВИРУС ЭПШТЕЙНА–БАРР У ПАЦИЕНТОВ С РАКОМ ЖЕЛУДКА

А.С. Васильева^{1,2}, А.Д. Молчанов^{1,3}, К.В. Смирнова¹

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

²ФГБНУ «НИИВС им. И.И. Мечникова», Москва;

³ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава
России (Сеченовский Университет), Москва

e-mail: vasilyevaalex23@gmail.com

Ключевые слова: вирус Эпштейна–Барр, рак желудка, вирус

Введение. Рак желудка (РЖ) занимает 3-е место по причине смерти от рака во всем мире. Основная часть случаев РЖ связана с различными патогенными инфекциями, включая *Helicobacter pylori* или вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ). ВЭБ-ассоциированный РЖ имеет несколько отличительных геномных или эпигеномных особенностей и клинико-патологических характеристик по сравнению с другими молекулярными подтипами РЖ.

Цель исследования — определить связь вирусной нагрузки в образцах цельной крови, плазмы и опухолевой ткани с клиническими показателями пациентов с РЖ.

Материалы и методы. Исследование проведено на 129 образцах ДНК, полученных от пациентов с морфологически подтвержденным диагнозом РЖ: 44 образца ДНК от пациентов, не прошедших неоадьювантную терапию, и 85 образцов ДНК, полученных из опухолевой ткани желудка пациентов, проходящих противоопухолевую терапию на разных стадиях развития патологического процесса в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. Тестирование вирусной нагрузки проводилось при помощи qPCR диагностики. Пнездовой ПЦР определялось наличие вирусоспецифического маркера LMP1. Для оценки взаимосвязи между статусом ВЭБ⁺ и клиническими параметрами (пол, возраст, TNM, классификация по Лорен, стадия, анатомическая локализация опухоли и перстневидные клетки) использовался критерий Фишера, связь считалась значимой при $p < 0,05$.

Результаты. По результатам исследования ВЭБ был обнаружен у 23 (17, 8 %) из 129 пациентов. Статус вируса определяли наличием высокой вирусной нагрузки (<1500 копий вирусной ДНК в 1 мл). Мы оценили экспрессию ВЭБ в клиническом материале пациентов для поиска факторов, связанных с клиническим течением РЖ. Обнаружена достоверная ассоциация ВЭБ⁺ статуса с полом ($p < 0,014$) и классификацией по Лорен ($p < 0,032$). При сравнении других показателей (возраста, классификации TNM, локализации, стадии, наличия или отсутствия перстневидных клеток) статистически значимые различия не выявлены.

Заключение. Полученные данные показывают потенциальную прогностическую значимость жидкостной

биопсии на основе определения вирусной нагрузки ВЭБ.

ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ микроРНК В ПЛАЗМЕ ПАЦИЕНТОВ С РАКОМ ЖЕЛУДКА

Е.А. Ветчинкина¹, И.В. Буре¹, Е.Б. Кузнецова^{1,2},
А.Э. Киселева¹, Е.А. Алексеева¹, М.В. Немцова^{1,2}

¹ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава
России (Сеченовский Университет), Москва;

²ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва
e-mail: nemtsova_m_v@mail.ru

Ключевые слова: рак желудка, микроРНК, биомаркер

Цель исследования — определить связь экспрессии циркулирующих в плазме микроРНК miR-1301-3p, miR-106a-5p, miR-129-5p, miR-3613-3p с клинико-патологическими характеристиками пациентов с РЖ и оценить их потенциал в качестве прогностических биомаркеров.

Материалы и методы. В исследование включены 66 образцов плазмы пациентов с РЖ и 48 — здоровых людей. Материал аннотирован с указанием клинико-патологических характеристик пациентов. Выделение тотальной РНК проводили с использованием Trizol (Life Technologies), получение комплементарной ДНК методом обратной транскрипции проводили набором MiScript II RT Kit (Qiagen), оценку уровня экспрессии методом ПЦР-РВ набором MiScript SYBR Green PCR Kit (Qiagen). Статистический анализ выполнен с использованием Statistica 13.1, t-критерия Стьюдента и критерия однофакторного дисперсионного анализа. Значения $p < 0,05$ считались статистически значимыми.

Результаты. При сравнении уровней экспрессии выбранных микроРНК в плазме пациентов с РЖ относительно плазмы контрольной группы обнаружены достоверные различия для miR-1301-3p ($p = 0,003$), miR-106a-5p ($p = 0,004$), miR-129-5p ($p < 0,001$), miR-3613-3p ($p < 0,001$). Средний уровень экспрессии микроРНК в плазме пациентов с РЖ составил: miR-1301-3p — 10,86, miR-106a-5p — 14,96, miR-129-5p — 5,07, miR-3613-3p — 11,78. Средний уровень экспрессии микроРНК в плазме здоровых людей составил: miR-1301-3p — 9,69, miR-106a-5p — 17,96, miR-129-5p — 6,22, miR-3613-3p — 13,37. Мы оценили экспрессию микроРНК для поиска факторов, связанных с клиническим течением РЖ. Обнаружена дифференциальная экспрессия miR-106a-5p в зависимости от наличия метастазов в региональных ЛУ ($p = 0,002$). Экспрессия miR-129-5p связана с развитием отдаленных метастазов ($p = 0,01$) и клинической стадией ($p = 0,01$). При сравнении других показателей (пола, возраста, классификации по Лорен, показателя Т по классификации TNM, общей выживаемости, локализации, наличия или отсутствия перстневидных клеток) статистически значимые различия не выявлены. Никаких

значимых ассоциаций при сравнении экспрессии микроРНК miR-1301-3p и miR-3613-3p в плазме пациентов с РЖ с различными клинико-патологическими характеристиками не получено.

Заключение. Полученные данные показывают потенциальную прогностическую значимость экспрессии miR-106a-5p и miR-129-5p в качестве биомаркеров в плазме при РЖ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 20-75-10117-П).

ХАРАКТЕРИСТИКА РАКОВО-ТЕСТИКУЛЯРНЫХ АНТИГЕНОВ КАК ПРОГНОСТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ РАКА ЯИЧНИКА

Р.А. Власенкова, Д.Н. Конышева, А.К. Нургалиева,
Р.Г. Киямова

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань
e-mail: r.mukhamadeeva@yandex.ru

Ключевые слова: рак яичников, антиген, маркер

Введение. Раково-тестикулярные антигены (РТА) — группа белков, экспрессия генов которых ограничена мужскими зародышевыми клетками, однако при раке гены РТА начинают экспрессироваться в опухолевых клетках. На сегодняшний день роль РТА как маркеров рака яичника изучена не полностью.

Цель исследования — анализ мутаций и экспрессии РТА, ассоциированных с карциномой яичника, и оценка их связи с ожидаемой продолжительностью жизни пациенток с карциномой яичника.

Материалы и методы. Отбор РТА для анализа был произведен по измененной экспрессии матричной РНК и белка в опухолях и асцитической жидкости больных карциномой яичника согласно данным литературы. Сбор данных проводили из 4 открытых баз: TCGA, AACR Genie, ICGC и ArrayExpress. С помощью инструментов для прогнозирования функциональной значимости мутаций были найдены функционально значимые мутации. Сравнение образцов опухолевых и здоровых тканей проводили с использованием теста Уилкоксона ($p < 0,05$). При анализе выживаемости была применена оценка Каплана–Мейера ($p < 0,05$).

Результаты. Для анализа были отобраны 21 РТА, уровень экспрессии которых был изменен в опухолях больных с карциномой яичника по сравнению с нормальными тканями яичника. Был собран набор данных, в который входили данные о мутациях и уровнях экспрессии генов 21 РТА, а также данные о выживаемости больных карциномой яичника ($n = 15665$).

Было идентифицировано 19 функционально значимых миссенс-мутаций в 9 генах, кодирующих следующие РТА: *ACRBP*, *CCT4*, *KDM5B*, *MAGEA1*, *MAGEA4*, *PIWIL1*, *PIWIL2*, *PRAME* и *SPA17*. Сравнение уровней экспрессии мРНК 21 РТА между здоровой и опухолевой тканями яичника показал, что в опухолевых образцах

повышен уровень экспрессии генов следующих РТА: *AKAP3*, *MAGEA4*, *PIWIL1* и *PRAME*, понижен – *CTAG1A*, *CTAG1B*, *MAGEC1* и *PIWIL2*. Наличие мутаций в гене *CCT4* и повышенная экспрессия гена *PRAME* коррелировали с хорошим прогнозом при РЯ, в то время как высокий уровень экспрессии генов *GAGE2A* и *CT45A1* коррелировал с плохим прогнозом.

Заключение. Таким образом, уровень экспрессии *GAGE2*, *PRAME* и *CT45A1*, а также наличие мутаций в гене *CCT4* коррелируют с прогнозом заболевания пациенток с карциномой яичника, среди них для *GAGE2*, *CCT4* и *PRAME*, что было показано впервые. Таким образом, раково-текстикулярные антигены *GAGE2*, *CCT4* и *PRAME* могут рассматриваться как новые потенциальные прогностические маркеры РЯ, требующие дальнейшего изучения.

ПРИМЕНЕНИЕ ЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДЛЯ ПОИСКА МУТАЦИЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С НАСЛЕДСТВЕННЫМИ ФОРМАМИ РМЖ/РЯ В ТУВИНСКОЙ ЭТНИЧЕСКОЙ ГРУППЕ

П. Гервас, А. Молоков, Н. Бабышкина, Л. Писарева,
Е. Чойнзонов, Н. Чердынцева

НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН, Томск
e-mail: pgervas@yandex.ru

Ключевые слова: герминальные мутации, рак молочной железы, рак яичника, этнические группы, тувинцы

Введение. ЗНО органов женской репродуктивной системы (РМЖ и РЯ) занимают лидирующие позиции по уровню заболеваемости во всем мире. С целью поиска новых генов, вовлеченных в патогенез РМЖ и РЯ, нами проведено полное секвенирование экзосом геномной ДНК тувинок с РМЖ или РЯ.

Материалы и методы. В исследование была включена 61 тувинка с РМЖ или РЯ в возрасте от 25 до 52 лет (средний возраст 37 лет). Одна из пациенток была исключена, так как у нее была обнаружена мутация гена *BRCA1* с.3615_3618del. Далее геномная ДНК 23 пациенток была протестирована на наличие мутаций 27 генов, ассоциированных с онкосиндромами. С учетом данных таргетного секвенирования, стоимости полноэкзомного секвенирования и высоких требований к материалу было отобрано 9 образцов геномной ДНК тувинок с РМЖ или РЯ. Для приготовления библиотек использовали набор BGI Optimal DNA Library Prep Kit, для гибридизации использовали зонды Agilent SureSelect Human All Exon V6 (60M). NGS проведено на секвенаторе нуклеиновых кислот с использованием технологии синтеза наноболов (DNBSeq-G400).

Результаты. По результатам данных NGS в группе тувинок с диагнозом РМЖ или РЯ нами впервые обнаружены патогенные мутации генов *LRG4*, *BRWD1*, *PDGFRA*, *CITED2*. У пациентки 37 лет с первично-мно-

жественными ЗНО (РЯ, рак эндометрия) и бесплодием в анамнезе (2 попытки ЭКО) была обнаружена патогенная мутация гена-онкосупрессора *CITED2* (Cbp/P300 Interacting Transactivator With Glu/Asp Rich Carboxy-Terminal Domain 2) rs779637348 (NM_001168388: exon2: c.510_536del: p.170_179del), частота встречаемости которой составляет 0,000 (dbPubMed). В исследовании R. Venturella (2019) мутация гена *CITED2* была описана при несиндромальной идиопатической недостаточности яичников. Идиопатическая недостаточность яичников – клинический синдром, объединяющий гетерогенную группу заболеваний, в которой овариальная недостаточность вызвана различными причинами, в том числе наследуемыми мутациями генов *FSHR*, *GALT*, *FOXL2*, *INHA*, *EIF2B*, *BMP151* и *AIRE*. В популяции восточно-европейских женщин доля идиопатической недостаточности яичников составляет 1,0 %, в общей популяции США – 1,1 %, среди афроамериканок – 1,4 %, в азиатском этносе (среди китайок) – 0,5 % и крайне редко среди японок – 0,1 %.

Заключение. Полученные нами данные косвенно указывают на вовлечение мутации гена *CITED2* (rs779637348, NM_001168388: exon2: c.510_536del: p.170_179del) в патогенез наследуемой идиопатической недостаточности яичников у тувинок.

Исследование выполнено при финансовой поддержке благотворительного фонда Владимира Потанина.

АНАЛИЗ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ МИКРОРНК В СОСТАВЕ ЭКЗОСОМ ПЛАЗМЫ КРОВИ И АСЦИТИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОК С РАКОМ ЯИЧНИКОВ

Е.И. Джугашвили¹, Н.В. Юнусова², Л.А. Коломиец²,
С.Н. Тамкович^{1,3}

¹ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск;

²НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН, Томск;

³ФГБНУ «ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск

e-mail: e.dzhugashvili@g.nsu.ru

Ключевые слова: экзосомы, микроРНК, кровь, асцит, рак яичников

Введение. РЯ является распространенным ЗНО женской репродуктивной системы и характеризуется низкой выживаемостью. Асцит формируется уже на ранних стадиях заболевания и играет роль уникального опухолевого микроокружения. Все большее интерес вызывают циркулирующие в плазме и асцитической жидкости экзосомы, которые отражают полный молекулярный портрет новообразования и содержат перспективные биомаркеры для ранней диагностики пациенток с РЯ.

Цель исследования – сравнительная оценка представленности и диагностической значимости miR-24 и miR-101 в экзосомах плазмы крови и асцитической

жидкости первичных больных с диссеминированным РЯ.

Материалы и методы. В ходе исследования анализировали экзосомы плазмы крови и асцитической жидкости больных с РЯ ($n = 20$) и плазмы крови здоровых женщин ($n = 19$). Экзосомы выделяли путем ультрафильтрации и ультрацентрифугирования. Экзосомы характеризовали трансмиссионной электронной микроскопией, трековым анализом и проточной цитофлуориметрией. Анализ кандидатных микроРНК проводили с помощью баз данных DIANA, PANTHER и STRING. После выделения экзосомальной РНК набором BioSilica Ltd. определяли относительный уровень микроРНК с использованием ОТ-ПЦР-РВ наборами БиоМастер HS-qPCR (2x) (BioLabmix, Россия). Полученные значения нормировали на уровень miR-16. Логистический регрессионный анализ выполнен для определения рисков развития РЯ. Достоверность различий оценивали с помощью U-критерия Манна-Уитни. Различия считали достоверными при значениях $p \leq 0,05$.

Результаты. Установлено, что асцитическая жидкость больных РЯ характеризуется наибольшей концентрацией экзосом; концентрация экзосом в плазме крови онкологических больных статистически значимо выше, чем у здоровых женщин. Выявлено статистически значимое понижение относительных уровней экзосомальных miR-24 и miR-101 в плазме крови и асцитической жидкости пациенток с РЯ по сравнению с плазмой крови здоровых женщин. Не найдено достоверных различий в уровнях данных микроРНК в экзосомах плазмы и асцитической жидкости больных. Биоинформатическим анализом выявлено участие miR-24 и miR-101 в канцерогенезе РЯ. Построенные логистические модели являются статистически значимыми ($p = 0,001$; $\chi^2 = 19,927$ и $p = 0,000$; $\chi^2 = 19,412$ соответственно).

Выводы. Полученные результаты подтверждают перспективность использования экзосомальных miR-101 и miR-24 для дополнительного скрининга РЯ методом жидкостной биопсии.

ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ ХИТИНАЗОПОДОБНЫХ БЕЛКОВ И ПОВЕРХНОСТНЫХ ГЛИКОПРОТЕИНОВ В ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ ПАЦИЕНТОК С ЭСТРОГЕН-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, ПОЛУЧАЮЩИХ ТАМОКСИФЕН

Т.А. Дронова¹, Н.Н. Бабьшкіна¹, Е.М. Слонимская²,
Н.В. Чердынцева¹

¹НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН, Томск;
²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный
университет», Санкт-Петербург
e-mail: tanjadronova@mail.ru

Ключевые слова: эстроген-положительный рак молочной железы, резистентность, тамоксифен, поверхностные гликопротеины, хитиназоподобные белки

Введение. В настоящее время лекарственная устойчивость является основным ограничивающим фактором в лечении пациентов со ЗНО. Хитиназоподобные белки и поверхностные гликопротеины вовлечены в процессы развития и прогрессирования РМЖ. Изменение экспрессионного и белкового профилей данных маркеров может определять развитие резистентности к терапии.

Цель исследования — изучить особенности содержания генной и белковой экспрессии хитиназоподобных белков и поверхностных гликопротеинов среди пациенток, получающих тамоксифен в адьювантном режиме.

Материалы и методы. Сформированы 2 группы больных эстроген-положительным РМЖ (T1-4N0-3M0): резистентные к тамоксифену ($n = 10$) и чувствительные к данной терапии ($n = 55$). Материалом для исследования послужила опухолевая и прилежащая нормальная ткани. Оценку экспрессии генов *CHI3L2*, *CHI3L1*, *CHID1*, *STAB1*, *CD44* и *CD24* проводили с использованием ОТ-ПЦР по технологии TaqMan. Содержание в опухолевой ткани белков YKL-39, YKL-40, SI-CLP, stabilin-1, CD44 и CD24 оценивали при помощи проточной цитометрии.

Результаты. Высокое содержание CD24 в опухолевых клетках молочной железы ассоциировано с чувствительностью к проводимой терапии тамоксифеном ($p = 0,007$). Транскрипционная активность гена *CD44* коррелировала с активностью генов *CD24* ($p = 0,021$, $r = 0,419$), *CHI3L1* ($p = 0,013$, $r = 0,442$), *STAB1* ($p = 0,029$, $r = 0,399$) и *CHID1* ($p = 0,040$, $r = 0,370$). Экспрессия *CHI3L2* положительно коррелировала с экспрессионной активностью генов *CHI3L1* ($p = 0,000$, $r = 0,405$), *STAB1* ($p = 0,006$, $r = 0,351$) и *CHID1* ($p = 0,046$, $r = 0,251$). Высокий уровень экспрессии гена *CHI3L2* связан с коротким периодом выживаемости без метастазов среди пациенток, резистентных к терапии ($p = 0,051$).

Заключение. Проведенное исследование указывает на то, что хитиназоподобные белки и поверхностные гликопротеины могут быть использованы в качестве информативных маркеров эффективности гормональной терапии эстроген-положительного РМЖ.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ PD-L1 В ПАРЕНХИМЕ ОПУХОЛИ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ТОЧНОСТИ ОЦЕНКИ РИСКА РЕГИОНАРНОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е.Ю. Зубарева^{1,2}, М.А. Сеньчукова^{1,2}, Д.А. Шубин¹,
А.Б. Прокофьев²

¹ГАОУ «Оренбургский областной клинический онкологический
диспансер», Оренбург;

²ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский

университет» Минздрава России, Оренбург
e-mail: tishkova_evgeniy@mail.ru

Ключевые слова: паренхима опухоли, метастазы, рак молочной железы

Введение. Повышение точности оценки состояния регионарных лимфатических узлов (ЛУ) и поиск новых маркеров, связанных с риском метастазирования РМЖ, продолжает оставаться актуальной проблемой.

Цель исследования — установить прогностическую значимость экспрессии PD-L1 в паренхиме опухоли для оценки риска регионарного метастазирования РМЖ.

Материалы и методы. В исследование включены 158 пациенток с впервые выявленным инвазивным РМЖ. Экспрессию PD-L1 изучали ИГХ-методом в образцах опухоли, полученных при трепан-биопсии. Коэффициент экспрессии маркера вычисляли в 5 полях по формуле:

$$\sum 1-5 \text{ (доля клеток без экспрессии} \times 1 + \text{доля клеток со слабой экспрессией} \times 2 + \text{доля клеток с выраженной экспрессией} \times 3) / 5.$$

С использованием ROC-анализа определяли оптимальные точки отсечения значений коэффициента экспрессии PD-L1 в опухоли, дискриминирующие случаи РМЖ с отсутствием (N0) и наличием (N1–3) метастазов в регионарные ЛУ. Для установления независимых предикторов регионарного метастазирования РМЖ выполняли однофакторный и многофакторный анализы.

Результаты. По результатам многофакторного анализа независимыми предикторами метастазирования РМЖ в регионарные ЛУ были T2 (ОШ 5,81, 95 % ДИ 1,75–19,35, $p = 0,004$), T3–T4 (ОШ 43,07, 95 % ДИ 9,31–199,2, $p < 0,0001$), наличие лимфоваскулярной инвазии (ОШ 3,32, 95 % ДИ 1,34–8,22, $p = 0,009$), отсутствие внутрипротокового компонента (ОШ 0,27, 95 % ДИ 0,09–0,75, $p = 0,013$), тройной негативный (ОШ 6,82, 95 % ДИ 1,13–42,26, $p = 0,036$) и люминальный в HER2-положительный (ОШ 8,52, 95 % ДИ 1,12–64,89, $p = 0,038$) молекулярно-биологические подтипы, а также коэффициент экспрессии PD-L1 в опухоли более 1,65 (ОШ 6,39, 95 % ДИ 2,5–16,09, $p = 0,0001$). Для создания прогностической модели мы суммировали отношения шансов независимых предикторов для каждого случая РМЖ. На основании полученных данных построена ROC-кривая для дискриминации случаев с N0 и N1–3 (AUC = 0,876; 95 % ДИ 0,818–0,924, $p < 0,001$) и разработан способ прогнозирования высокого риска регионарного метастазирования РМЖ. Согласно этому способу при сумме ОШ $> 15,63$ прогнозируют высокий риск регионарного метастазирования РМЖ. Чувствительность метода составляет 80,9 %, специфичность — 82,6 % и точность — 85,7 %. Разработанный способ может дополнить стандартные клиническо-инструмен-

тальные исследования для уточнения показаний к подмышечной лимфодиссекции и НХТ РМЖ.

Заключение. Коэффициент экспрессии PD-L1 наряду с клиническими, морфологическими и молекулярно-биологическими характеристиками может рассматриваться как независимый предиктор высокого риска регионарного метастазирования РМЖ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 23-25-00183, <https://rscf.ru/project/23-25-00183/>).

АТИПИЧНЫЕ/ГИБРИДНЫЕ ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЭНДОМЕТРИЯ: СВЯЗЬ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ГЕМАТОГЕННЫХ МЕТАСТАЗОВ И РЕЦИДИВОВ

Е. В. Кайгородова^{1,2}, И. С. Заваруев², М. Ю. Грищенко^{2,3}

¹НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН, Томск;

²ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск;

³ОГБУЗ «Томский областной онкологический диспансер», Томск
e-mail: zlobinae@mail.ru

Ключевые слова: опухолевая клетка, метастазы, рецидив, рак эндометрия

Введение. Общеизвестный факт, что одной из причин неудач в лечении рака эндометрия (РЭ) являются рецидивы и метастазы этого заболевания. В процессах рецидивирования и метастазирования участвуют циркулирующие опухолевые клетки, которые по ранее полученным нами результатам представляют собой гетерогенную популяцию. Более того, опухолевые клетки могут образовывать гибридные формы с клетками крови, усиливая свою злокачественность.

Цель исследования — провести сравнительную характеристику особенностей встречаемости атипичных/гибридных форм Epcam+ CD45+ клеток в крови у больных РЭ до и после операции и оценить их прогностическую значимость.

Материалы и методы. В проспективное клиническое исследование NCT04817501 были включены 55 больных с впервые диагностированным РЭ T1a–2N0M0 стадии, средний возраст $57,8 \pm 1,7$ года, которые поступили на лечение в НИИ онкологии Томского НИМЦ и/или Томский областной онкологический диспансер. Материалом для исследования являлась стабилизированная этилендиаминтетрауксусной кислотой венозная кровь, взятая у пациенток перед оперативным лечением опухоли и после лечения. Наличие атипичных/гибридных форм Epcam+CD45+ клеток в крови определяли методом многоцветной проточной цитометрии с помощью меченных различными флуорохромами моноклональных антител к молекулам CD45, Epcam, CK, CD44, CD24, CD325, CD133, MUC16, Her², ki67 и красителя NucBlue Live Cell Stain Ready Probes reagent (Invitrogen, США).

Результаты. Проспективное исследование показало, что у 11 пациенток из 55 больных РЭ спустя 4–5 лет наблюдений после лечения были обнаружены метастазы и рецидивы РЭ. При сравнении частот встречаемости атипичных/гибридных EpCAM+CD45+ клеток у больных РЭ до операции и на 3-и сутки после операции различий не обнаружено. Сравнивая частоты встречаемости атипичных/гибридных форм EpCAM+CD45+ клеток у больных РЭ с выявленными гематогенными метастазами и рецидивами и у больных РЭ без гематогенных метастазов и рецидивов, было выявлено, что в крови у больных РЭ до операции с развившимися гематогенными метастазами и/или рецидивами после лечения чаще встречаются клетки EpCAM+CD45+ ($p=0,03$). Установлено, что концентрация EpCAM+CD45+ клеток у пациенток с опухолевой прогрессией после лечения 125 (120;387) клеток/мл выше, чем у пациенток без указанных осложнений – 30 (0;220) клеток/мл ($p = 0,022$). ROC-анализ предикторной значимости атипичных/гибридных EpCAM+CD45+ клеток выявил, что показатель площади под ROC-кривой AUC составил 0,75, $p = 0,019$.

Заключение. Количество атипичных/гибридных форм EpCAM+CD45+ клеток до начала лечения связано с риском развития рецидивов и гематогенных метастазов у больных РЭ.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ МД-2017.2020.7.

МУТАЦИЯ В ГЕНЕ *CHEK2* С.470Т>С У ПАЦИЕНТОК С РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ СЛАВЯНСКОЙ И КРЫМСКО-ТАТАРСКОЙ ПОПУЛЯЦИЙ РЕСПУБЛИКИ КРЫМ

А.В. Камышева, И.И. Фомочкина, К.А. Алиев,
А.В. Кубышкин

ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», Симферополь,
Республика Крым
e-mail: anastasiia.maiakovska@gmail.com

Ключевые слова: наследственный рак молочной железы, мутация, *CHEK2*, популяционный полиморфизм, частота встречаемости

Введение. Наследственный РМЖ – наиболее частая онкопатология по уровню заболеваемости среди женского населения в мире, обусловленная наличием герминальных мутаций в генах-кандидатах. Мутации при онкопатологии, характерные для конкретного региона, называются фаундер-мутациями.

Цель исследования – определить мажорную мутацию в генах-кандидатах наследственного РМЖ *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *PALB2* у пациенток с клиническими признаками наследственного РМЖ славянской и крымско-татарской популяций Республики Крым.

Материалы и методы. Изучались мутации в генах репарации двуцепочечных разрывов: *BRCA1* (с.5266dupC, с.181Т>G, с.5251С>Т, с.4035delA, с.5161С>Т, с.4675G>A,

с.68_69del, с.3700_3704del, с.1961delA), *BRCA2* (с.3749dupA, с.961_962insAA), *CHEK2* (с.470Т>С, с.1100delC, с.444+1G>A, с.893_897del), *PALB2* (с.1592delT). Материалы: цельная кровь пациенток с клиническими признаками наследственного РМЖ (ГБУЗ РК «Крымский республиканский онкологический клинический диспансер им. В.М. Ефетова») и контрольной группы пациенток без семейной истории онкопатологий (ООО «Клиника Генезис»).

Выделение ДНК из цельной крови пациентов на спин-колонках набором ExtractDNA Blood (Евроген, Россия); постановка ПЦР-РВ с детекцией кривых плавления с помощью набора HRR-скрининг (Тестген, Россия).

Результаты. Проанализированы образцы ДНК 111 пациенток с повышенным риском наследственного РМЖ (87 славянской и 24 крымско-татарской популяций) и 44 пациенток контрольной группы (27 славянского и 17 крымско-татарского этносов). Пациентки славянского этноса с повышенным риском наследственного РМЖ имели мутацию в гене *CHEK2* с.470Т>С в 12,6 % случаев, в контрольной группе – в 7,4 %. У пациенток 1-й группы были обнаружены мутации в гене *BRCA1* с.5266dupC – в 5,7 %; с.1961delA – в 2,3 %; с.4675G>A, с.3700_3704del, с.5251С>Т, с.181Т>G – в 1,1 %. Пациентка славянского этноса с повышенным риском наследственного РМЖ была носителем 2 мутаций: в гене *CHEK2* с.470Т>С и *BRCA1* с.5266dupC. У пациенток крымско-татарского этноса с повышенным риском наследственного РМЖ обнаружены мутации в гене *CHEK2* с.470Т>С – 8,3 %; в контрольной группе – 5,9 %; у пациенток с повышенным риском наследственного РМЖ выявлена мутация в гене *BRCA1* с.1961delA – 4,2 %. Мутации в генах *BRCA2* и *PALB2* у пациенток с клиническими признаками наследственного РМЖ в Республике Крым не обнаружены. Статистическая значимость: $p = 0,168$.

Заключение. У пациенток славянского и крымско-татарского этносов Республики Крым мажорной мутацией является с.470Т>С гена *CHEK2*. Статистика показала, что наличие мутации с.470Т>С в гене *CHEK2* не ассоциировано с повышением риска наследственного РМЖ у пациенток. Этот факт ранее показан исследователями из России. Однако в популяциях США и Европы эта ассоциация присутствует, поэтому следует увеличивать выборку для роста достоверности.

ОЦЕНКА РАДИКАЛЬНОСТИ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ МЕТАСТАТИЧЕСКОГО КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА МЕТОДОМ ЖИДКОСТНОЙ БИОПСИИ

Е.А. Колесникова¹, А.В. Масленникова^{1,2}, В.А. Новикова^{1,2},
С.А. Климин¹, Д.С. Козлов², Д.С. Кузнецова²,
С.В. Гамаюнов¹

¹ГБУЗ НО «Нижегородский областной клинический онкологический диспансер» Минздрава России, Нижний Новгород;

²ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Нижний Новгород
e-mail: kolesnikova@nood.ru

Ключевые слова: циркулирующая опухолевая ДНК, цифровая капельная ПЦР, KRAS, BRAF, жидкостная биопсия, колоректальный рак

Введение. Одним из многообещающих диагностических инструментов в области клинической онкологии является количественное определение циркулирующей опухолевой ДНК на основе детекции опухоль-специфических мутаций в таких генах, как *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* и др. Клиническое применение циркулирующей опухолевой ДНК заключается в оценке терапии, а именно в выявлении ранней резистентности, а также прогнозировании послеоперационного рецидива после радикального хирургического лечения или достижения полного регресса опухоли. Данные литературы свидетельствуют о многочисленных исследованиях о прогнозировании послеоперационного рецидива на основе определения циркулирующей опухолевой ДНК в плазме крови при различных видах ЗНО, в том числе КРР. Однако в России подобные исследования являются единичными и в основном выполняются для решения фундаментальных задач. Известно, что концентрация циркулирующей опухолевой ДНК в плазме крови пропорциональна общей массе опухоли. Поэтому циркулирующая опухолевая ДНК относительно легко обнаруживается у пациентов с распространенным заболеванием, а уменьшение опухолевой массы в результате терапевтического воздействия или полной резекции новообразования, как правило, приводит к падению уровня циркулирующей опухолевой ДНК в периферической крови. Имеющиеся в настоящее время прогностические признаки не позволяют ответить на вопрос о наличии микрометастазов у конкретного пациента. В связи с этим весьма обоснована идея использования жидкостной биопсии (в частности, количественной оценки концентрации опухолевых мутаций в плазме) для визуализации оценки радикальности хирургического этапа лечения пациентов с метастатическим КРР.

Цель исследования — анализ циркулирующей опухолевой ДНК плазмы крови пациентов с метастатическим КРР с использованием цифровой капельной ПЦР.

Материалы и методы. В исследование включены 20 пациентов с метастатическим КРР VIa стадии с му-

тациями в генах *BRAF*, *NRAS* и *KRAS*. У всех пациентов была отобрана плазма крови (всего 64 образца) до операции, после операции и каждые 3 мес после хирургического этапа лечения. С использованием цифровой капельной ПЦР на приборе QX200 на сегодняшний день проанализировано 16 образцов плазмы от 6 пациентов. Выделение ДНК проводили в соответствии с протоколом для набора Direct-zol DNA Miniprep. Концентрацию ДНК измеряли с помощью набора Qubit dsDNA HS High Sensitivity на флуориметре Qubit 4. Концентрация ДНК, выделенной из плазмы пациентов, варьировала от 1 до 13 нг/мкл. Амплификацию проводили в термоциклере C1000 (95 °C в течение 10 мин, 45 циклов ПЦР-амплификации (94 °C в течение 30 с, 55 °C в течение 60 с) с последующим циклом 98 °C в течение 10 мин). Данные цифровой ПЦР анализировали с помощью программного обеспечения для анализа QuantaSoft.

Результаты. Установлено, что у 5 пациентов показатели уровня циркулирующей опухолевой ДНК, содержащей мутированные аллели (*KRAS* G13D и *BRAF* V600E) в плазме крови, были равны нулю или имели низкие значения (от 1 до 4 капле) относительно аллелей дикого типа генов *KRAS* и *BRAF* как до оперативного лечения, так и в процессе динамического мониторинга после резекции печени. По данным КТ области брюшной полости, забрюшинного пространства и органов грудной клетки, у всех пациентов отсутствуют признаки прогрессирования заболевания, что свидетельствует о радикальности проведенного хирургического этапа лечения.

Однако из 6 исследованных пациентов у 1 (М., 38 лет) спустя 3 мес наблюдения после атипичной резекции 4б сегмента печени, мультифокальной резекцией 7, 5 сегментов печени на фоне снижения общего количества ДНК, содержащей аллели дикого типа гена *KRAS*, с 2017 до 1250 событий выявлен рост числа копий ДНК (с 0 до 31), содержащих мутированные аллели гена *KRAS* (G13D). Такой рост циркулирующей опухолевой ДНК у пациента М. может свидетельствовать о высоком риске рецидива его заболевания, которое сегодня невозможно обнаружить при помощи применяемых рутинных диагностических методов, так как, по данным последних КТ указанных областей, у пациента М. явных признаков прогрессирования не обнаружено.

Заключение. Предварительные результаты исследования свидетельствуют о том, что оценка уровня циркулирующей опухолевой ДНК в плазме пациентов с метастатическим КРР может быть важным специфическим биомаркером для определения прогноза, мониторинга лечения и ранней диагностики рецидивов заболевания.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ КОЛОРЕКТАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ ПАЦИЕНТОВ *EX VIVO* МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ВРЕМЯРАЗРЕШЕННОЙ МИКРОСКОПИИ FLIM

А.Д. Комарова^{1,2}, С.Д. Сипюшкина¹, И.Д. Щечкин^{1,2},
И.Н. Дружкова¹, Е.А. Шишкин³, Е.Э. Никонова³,
В.И. Щеславский¹, М.В. Ширманова¹

¹ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Нижний Новгород;

²ФГАОУ ВО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород;

³ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва
e-mail: komarova.anastasii@gmail.com

Ключевые слова: колоректальный рак, метаболический кофактор

Введение. В настоящее время большое внимание в онкологии уделяется вопросам опухолевой гетерогенности, которая усложняет диагностику и терапию ЗНО и является негативным прогностическим фактором. Межопухолевые и внутриопухолевые отличия касаются различных характеристик и аспектов жизнедеятельности опухолевых клеток, включая клеточный метаболизм. В качестве перспективной технологии оценки метаболической гетерогенности рассматривается метод FLIM (Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy).

Цель исследования — визуализация и количественная оценка клеточной метаболической гетерогенности КРР с использованием флуоресцентной визуализации времени жизни (FLIM) метаболического кофактора НАД(Ф)Н.

Материалы и методы. Исследование проводили на клеточных линиях КРР человека HT29 и HCT116 на моделях опухолей HT29 ($n = 3$) и HCT116 ($n = 3$) *in vivo*, образцах *ex vivo* КРР пациентов ($n = 21$). Анализ автофлуоресценции метаболического кофактора НАД(Ф)Н проводили методом FLIM на лазерном сканирующем микроскопе LSM 880 ($\lambda_{ex} = 750$ нм, $\lambda_{em} = 450$ – 490 нм). Параметры затухания флуоресценции оценивали в программе SPCImage 8.5. Для оценки гетерогенности на клеточном уровне использован новый количественный критерий — индекс бимодальности BI_{a_1} .

Результаты. Методом FLIM с применением BI_{a_1} установлено, что в опухолях *in vivo* внутриопухолевая гетерогенность выше ($BI_{a_1} \geq 1,1$), чем в монослойных культурах опухолевых клеток *in vitro*. В образцах КРР *ex vivo* вклад свободной формы кофактора НАД(Ф)Н (a_1) составил 60–80 %, среднее время жизни флуоресценции (τ_m) — 0,9–1,3 нс, что свидетельствует о более окислительном статусе опухолей в сравнении с моделями *in vitro* и *in vivo*. Для 9 из 21 *ex vivo* образцов была выявлена высокая метаболическая гетерогенность ($BI_{a_1} \geq 1,1$), в 11 образцах BI_{a_1} составил 0,59–0,1, что свидетельствует о наличии гетерогенности без раз-

деления на субпопуляции клеток, 1 образец — метаболически гомогенный ($BI_{a_1} = 0,24$). При сопоставлении полученных результатов с клиническими параметрами установлено, что высокие значения BI_{a_1} наблюдались в опухолях поздних стадий (T3 и T4) с присутствием метастазов.

Заключение. Методом FLIM с применением нового количественного критерия оценки гетерогенности опухолей продемонстрирована связь между внутриопухолевой метаболической гетерогенностью и клиническими параметрами.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 23-25-00100).

МАЛОИНВАЗИВНЫЕ МОЛЕКУЛЯРНО- ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА КОЖИ: ОТ БИОИНФОРМАТИКИ К ЛАБОРАТОРНОМУ СКРИНИНГУ

Д.С. Кутилин, В.А. Сустретов

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону
e-mail: k.denees@yandex.ru, vsustretov@inbox.ru

Ключевые слова: биоинформатика, копийность генов, плоскоклеточный рак кожи, внеклеточная ДНК

Введение. Плоскоклеточный рак (ПРК) является одной из наиболее распространенных форм рака кожи во всем мире с показателем смертности, превышающим общую ежегодную смертность от меланомы. Актуальным направлением исследований в настоящее время остается скрининг генетических маркеров ПРК. В изучении молекулярных механизмов достигнуты существенные результаты: выявлены ключевые сигнальные пути аномалии, в которых приводят к развитию данного заболевания — сигнальные пути EGFR, NOTCH, TP53 и др. Но по состоянию на 2023 г. ни один диагностический или прогностический маркер пока не вошел в клиническую практику.

Цель исследования — выявление новых малоинвазивных молекулярных маркеров ПРК с использованием комбинации биоинформационного и лабораторного скрининга аномальной копийности генетических локусов в тканях и плазме крови.

Материалы и методы. Был проведен биоинформационный анализ базы данных TCGA с использованием алгоритма GISTIC2, позволивший сформировать перечень потенциальных молекулярно-генетических маркеров. Лабораторный этап работы выполнен на 60 пациентах с ПРК и 30 условно здоровых добровольцах (контрольная группа). Для дифференцировки опухолевых и нормальных клеток кожи был применен метод лазерной микродиссекции с бесконтактным захватом. Выделение клеточной и внеклеточной ДНК осуществляли методом фенолхлороформной экстракции.

Определение относительной копийности генов в нормальных и опухолевых клетках кожи и во внеклеточной ДНК проводили методом Real-Time qPCR. Оценку различий проводили, используя критерий Манна–Уитни с поправкой Бонферрони. Для построения предсказательных моделей использовали LASSO-пенализованную логистическую регрессию.

Результаты. С использованием алгоритма GISTIC2 были идентифицированы локусы TP53, MDM2, PRKCI, SOX2, OCT4, PIK3, PTEN, NOTCH1, EXO1, KRAS, EGFR, BRAF, CYP1-A1, -A2, -B1, CYP19A и MAGEA1, показатель копийности которых статистически значимо отличался в опухолевых и нормальных тканях кожи. Полученные маркеры были валидированы на выборке больных ППК ($n = 60$). Обнаружено, что статистически значимо ($p < 0,005$) копийность генов *MDM2*, *SOX2*, *PIK3*, *EGFR*, *BRAF* и *MAGEA1* была повышена, а копийность *PTEN*, *EXO1* и *TP53* снижена в опухолевых клетках относительно нормальных. На внеклеточной ДНК (из плазмы крови 60 больных и 30 доноров) проведен анализ копийности описанных выше локусов. Обнаружено статистически значимое ($p < 0,05$) увеличение копийности *EGFR* и *MAGEA1*, и снижение копийности *PTEN* и *TP53* во внДНК больных ППК относительно внеклеточной ДНК доноров. Для получения надежной диагностической модели использовали LASSO-пенализованную логистическую регрессию, оптимизированную при помощи bootstrap наборов данных. Регрессионные модели формировали из пар генов с наиболее высоким значением AUC. Полученные модели позволили правильно классифицировать образцы с точностью среднего значению $AUC = 0,94$. В состав финальной регрессионной модели вошли 4 пары генов: *PTEN/TP53*, *MAGEA1/TP53*, *PTEN/EGFR*, *TP53/EGFR* и *PTEN/MAGEA1*. При помощи такого сочетания генов достигалась чувствительность 94 % и специфичность 89 % при классификации исследуемых людей на группы больных ППК и здоровых доноров.

Заключение. Таким образом, комбинация биоинформационного и молекулярно-генетического анализа позволила выявить перечень маркеров – *PTEN*, *TP53*, *MAGEA1* и *EGFR*, сочетание которых имеет потенциал в качестве малоинвазивных маркеров ППК.

НЕИНВАЗИВНЫЕ МАРКЕРЫ СЕРОЗНОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЯИЧНИКОВ: ОТ МЕТАБОЛОМИКИ К ТРАНСКРИПТОМИКЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ

Д.С. Кутилин¹, М.Р. Цандекова², О.Н. Гуськова¹

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону;

²ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» Минздрава Краснодарского края, Краснодар
e-mail: k.denees@yandex.ru

Ключевые слова: масс-спектрометрия, метаболомика, микроРНК, рак яичника, неинвазивные маркеры

Введение. Актуальным направлением исследований в онкогинекологии является скрининг генетических, эпигенетических и транскриптомных маркеров РЯ. В случае последних (а именно микроРНК) достигнуты существенные результаты, но ни один из этих маркеров так и не вошел в клиническую практику. Метод ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии позволяет получить информацию обо всех низкомолекулярных метаболитах в биологических жидкостях больных РЯ, которые могут стать потенциальными маркерами заболевания. УВЭЖХ-МС имеет ограниченное распространение в учреждениях здравоохранения – соответственно, необходим переход от результатов метаболомного профилирования к маркерам, определение которых возможно более доступными методами.

Цель исследования – выявление новых неинвазивных молекулярных маркеров РЯ с использованием метаболомного и транскриптомного профилирования мочи.

Материалы и методы. Работа выполнена на 60 пациентках с РЯ (серозная аденокарцинома) и 30 условно здоровых добровольцах (контрольная группа). Для анализа собиралась 1-я утренняя моча, которая обрабатывалась по стандартному протоколу для метаболомного анализа. Разделение метаболитов проводили на хроматографе Vanquish Flex UHPLC System, сопряженном с масс-спектрометром Orbitrap Exploris 480. Идентификацию метаболитов проводили в программу Compound Discoverer Software. Поиск генов-регуляторов метаболитов и микроРНК регуляторов генов осуществляли с использованием метода машинного обучения Random forest. РНК выделяли с помощью набора RNeasy Plus Universal Kits. Уровень транскриптов микроРНК в моче определяли методом ПЦР-РВ. Для оценки различий использовали критерий Манна–Уитни с поправкой Бонферрони.

Результаты. Методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии в моче обследуемых было идентифицировано 438 метаболитов. У больных РЯ 26 соединений имели аномальную концентрацию по сравнению с контрольной группой (жирные кислоты, ацилкарнитины, фосфолипиды, аминокислоты и их производных, производные азотистых оснований). Методом Random forest были установлены взаимосвязи метаболит ген-регулятора (47 генов) и метаболит микроРНК-регулятора (613 микроРНК). Выявленные микроРНК были валидированы методом ПЦР-РВ. Обнаружены изменения уровня микроРНК miR-423-5p, miR-6843-3p, miR-4668-3p, miR-30c-5p, miR-6743-5p, miR-4742-5p, miR-1207-5p и miR-17-5p в моче пациенток с РЯ относительно контрольной группы.

Заключение. Метаболомное и транскриптомное профилирование мочи больных РЯ выявило аномальный

уровень микроРНК miR-423-5p, miR-6843-3p, miR-4668-3p, miR-30c-5p, miR-6743-5p, miR-4742-5p, miR-1207-5p и miR-17-5p, которые имеют потенциал в качестве неинвазивных маркеров серозной аденокарциномы яичников.

ПРИМЕНЕНИЕ ЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ: ПАТОГЕННАЯ МУТАЦИЯ ГЕНА *BRWD1* ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ТУВИНСКОЙ ЭТНИЧЕСКОЙ ГРУППЕ

А. Молоков, П. Гервас, Л. Писарева, Е. Чойнзонов,
Н. Чердынцева

НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН, Томск
e-mail: amolokov@inbox.ru

Ключевые слова: герминальные мутации, рак молочной железы, рак яичников, этнические группы, тувинцы

Введение. РМЖ занимает лидирующие позиции по уровню заболеваемости во всем мире. Для каждой этнической группы характерны специфические мутации, вовлеченные в патогенез наследственного РМЖ. **Цель исследования** — поиск новых генов, вовлеченных в патогенез РМЖ. Для этого нами проведено полное секвенирование экзома геномной ДНК тувинок с РМЖ.

Материалы и методы. В исследование было включены 59 тувинок с РМЖ в возрасте от 25 до 52 лет (средний возраст 37 лет). Далее отобрали геномную ДНК 21 пациентки и провели таргетное секвенирование на наличие мутаций 27 генов, ассоциированных с онкосиндромами. По результатам предыдущего этапа было отобрано 7 образцов геномной ДНК тувинок с РМЖ. Для приготовления библиотек использовали набор BGI Optimal DNA Library Prep Kit, для гибридизации — зонды Agilent SureSelect Human All Exon V6 (60M). NGS проведено на секвенаторе нуклеиновых кислот с использованием технологии синтеза наноболов (DNBSeq-G400).

Результаты. По результатам данных NGS в группе тувинок с диагнозом РМЖ нами впервые обнаружены патогенные мутации генов *LRG4*, *BRWD1*, *PDGFRA*. У пациентки с РМЖ, диагностированным в 39 лет, нами обнаружена герминальная, вероятно, патогенная мутация гена *BRWD1*: NM_018963: exon40: c.A5573T: p.Q1858L (rs147211854). Согласно базе данных dbPubMed частота встречаемости rs147211854 составляет 0,006. Ген *BRWD1* кодирует бромодомен-содержащие белки, которые участвуют в разнообразных клеточных функциях, включая активацию транскрипции, ремоделирование хроматина SWI/SNF, сплайсинг мРНК и репликацию ДНК. В исследовании Guohong Zhang применение метода секвенирования всего экзома и анализ данных MutSigCV привели к открытию 6 генов-драйверов при раке Педжета: *KMT2C*, *ARID2*, *FSIP2*, *CCDC168*, *CASP8AP2* и *BRWD1*. Таким образом, нами не найдено данных о герминальных мутациях гена

BRWD1 при наследуемых формах РМЖ/РЯ, но данные литературы косвенно указывают на вовлечение мутации гена *BRWD1* в патогенез РМЖ. Необходимо изучить частоту встречаемости мутации гена *BRWD1* (rs147211854) на расширенной выборке пациентов с РМЖ/РЯ, принадлежащих к тувинскому этносу.

Заключение. Впервые обнаружена патогенная мутация гена *BRWD1* (rs147211854, NM_018963: exon40: c. A5573T: p. Q1858L) у молодой тувинки с РМЖ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ (грант № 23-25-00386).

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГОРМОНОЗАВИСИМОГО HER2-НЕГАТИВНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С МУТАЦИЕЙ В ГЕНЕ *PIK3CA* У ПАЦИЕНТОВ Г. СУРГУТА

Ю.Н. Мурунова, Э.М. Магомедова

БУ Ханты-Мансийского Автономного округа — Югры «Сургутская окружная клиническая больница», Сургут
e-mail: pinch.yulka@gmail.com, magomedovaem@surgutokb.ru

Ключевые слова: мутация *PIK3CA*, люминальный рак молочной железы

Введение. При исследовании HR+HER2 РМЖ в 25–40 % обнаруживаются мутации в онкогене *PIK3CA*. Показано, что мутации в гене *PIK3CA* определяют разные клинико-морфологические особенности РМЖ.

Цель исследования — дать характеристику частоты и спектра мутаций *PIK3CA* у пациентов с HR+/HER2-распространенным РМЖ г. Сургута и изучить клинико-морфологические параметры опухоли с мутацией *PIK3CA*.

Материалы и методы. За 2020–2022 гг. образцы опухоли 101 пациента с HR+HER2-распространенным РМЖ были направлены на определение мутации в гене *PIK3CA*. В зависимости от наличия мутации были сопоставлены характеристики опухоли и клинические проявления заболевания. Сравнение частоты мутаций в разных подгруппах выполнено с помощью точного критерия Фишера, сравнение частоты мутаций в зависимости от стадии — с помощью критерия χ^2 -Пирсона.

Результаты. Возраст пациентов на момент верификации варьировал от 29 до 70 лет, в среднем $49,9 \pm 7,8$ года. Мутации в гене *PIK3CA* выявлены в 27 (26,7 %) наблюдениях. Наиболее частые: p.E542K — 11,1 %, p.E545K — 29,6 %, p.H1047R — 51,9 %. Распределение по подтипам опухоли среди пациенток с мутацией в гене *PIK3CA*: люминальный А — у 22 (81,5 %), люминальный В — у 5 (18,5 %), в группе без мутации: люминальный А — у 44 (59,5 %), люминальный В — у 30 (40,5 %), $\chi^2 = 4,034$, $p = 0,045$. Разница в подгруппах с мутацией и без нее при распределении на подтипы оказалась

достоверной, следовательно, можно предположить, что у пациентов с люминальным А подтипом за агрессивное течение заболевания отвечала именно мутация в гене *PIK3CA*. На момент верификации пациентов с I стадией было 10 (9,9 %), из них с мутацией – 1 (3,7 %), со II стадией – 32 (31,7 %), с мутацией – 5 (18,5 %), с III стадией – 50 (49,5 %), с мутацией – 16 (59,3 %), с IV стадией – 10 (9,9 %), с мутацией – 5 (18,5 %). Таким образом, первично операбельный РМЖ отмечался в 42 (41,6 %) случаях, в том числе с мутацией – в 6 (22,2 %), местно-распространенный РМЖ на момент верификации был у 60 (59,4 %) пациентов, с мутацией – у 21 (77,8 %), $\chi^2 = 4,034$, $p = 0,045$. Среди пациентов с распространенным РМЖ в достоверно большем количестве наблюдений на момент верификации диагноза определялась мутация в гене *PIK3CA*, что может свидетельствовать о более агрессивном течении процесса. Число пациенток с III–IV стадией заболевания с малым первичным размером опухоли (до 2 см) при наличии мутации на момент верификации составило 15 (55,6 %), что может свидетельствовать о высоком потенциале опухоли к метастазированию при незначительном размере первичного очага.

Заключение. Частота и спектр мутаций *PIK3CA* у пациентов г. Сургута с HR+/HER2-распространенным РМЖ составляет 26,7 %, что совпадает с данными мировых исследований. Обнаружены ассоциации мутаций *PIK3CA* с люминальным А подтипом, низким индексом пролиферации, малым размером первичного очага. При наличии мутации в гене *PIK3CA* опухоль даже при малых начальных размерах имеет способность к быстрому распространению в регионарные ЛУ и отдаленному метастазированию.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ И АКТУАЛЬНЫЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЛИМФОМЫ ХОДЖКИНА

В.Г. Мустяцэ, В.Г. Стратан, И.Г. Кеменчеджи,
И.Б. Виноградов, А.Н. Голуб, В.Р. Шевченко

ГУ медицины и фармации им. Н. Тестемицану,
Департамент гематологии, Институт онкологии, Кишинев,
Республика Молдова
e-mail: vasilie.musteata@usmf.md

Ключевые слова: лимфома Ходжкина, диагностические маркеры, нодулярный склероз, генерализованные стадии, бремя болезни

Введение. Лимфома Ходжкина (ЛХ) – относительно частое лимфопрлиферативное новообразование в структуре заболеваемости гематологическими опухолями, характеризующееся в поздних стадиях рецидивирующим течением, значительным бременем болезни и неблагоприятным прогнозом. Уровень заболеваемости ЛХ среди всех злокачественных лимфом составляет 24 %. ЛХ характеризуется разным ответом на лечение в зависимости от стадии и гистологического типа.

Цель исследования – идентификация и оценка эпидемиологических паттернов и диагностических аспектов ЛХ у больных с разными стадиями.

Материалы и методы. Мы провели обсервационное и когортное исследование. Диагноз был подтвержден гистопатологическими, иммуногистохимическими и молекулярно-генетическими анализами. Стадирование больных проводилось в соответствии с критериями классификации злокачественных лимфом Лугоно. В исследование были включены ретроспективная и проспективная группы из 60 пациентов с ЛХ, диагностированных и пролеченных в Институте онкологии Молдовы с 2018 по 2022 г. Для проведения исследований использовались следующие методы: эпидемиологический, дескриптивная и сравнительная статистика, аналитика больших данных.

Результаты. Пациенты – в возрасте от 20 до 73 лет (медиана возраста 43,03 года). Возрастная категория до 35 лет оказалась более частой (41,7 %). Больные в возрасте 36–50 лет составили 31,7 %. Наименьшая частота ЛХ выявлена у больных старше 71 года – 6,7 %. Морфологические и ИГХ-исследования определили нодулярный склероз как наиболее частый гистологический тип (66,7 %). Большинство больных обращались к гематологам в генерализованных стадиях: III стадия – 21,3 %, IV стадия – 36,6 %. Локализованные стадии диагностированы в 41,6 %. Помимо увеличения ЛУ и роста бремени болезни (100 %), наиболее частыми симптомами оказались быстрая утомляемость (31,6 %), болевой синдром (30 %), значительное снижение массы тела за короткий период времени и повышенная ночная потливость (21,6 %), стойкий кожный зуд (16,6 %), лихорадка (15 %). На прогноз повлияли факторы высокого риска: поражение более 4 зон ЛУ – 48,3 % случаев, СОЭ >50 мм/ч – 35 %, возраст старше 50 лет – 31,6 %, массивное поражение средостения – 13,23 %, СОЭ >30 мм/ч в сочетании с симптомами Б – 11,6 %. ИГХ-маркеры CD30 и CD15 выявлены у 58 (96,7 %) больных. MUM1 выявлен в 33,3 % случаев, PAX5 – в 30 %, CD20 – в 3,6 %, CD45 – в 3,3 %, а также Oct-2+, BoV. 1+, BCL-6+, J-chain+ (при нодулярном типе с преобладанием лимфоцитов).

Заключение. Наиболее часто при ЛХ поражалась возрастная группа населения до 35 лет (41,7 %). Латентное начало и длительный малосимптомный период обусловили позднее обращение больных к гематологу и, таким образом, объяснили преобладание больных с генерализованными стадиями и возросшим бременем болезни.

ВЛИЯНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ABCG2-ТРАНСПОРТЕРОВ НА ЭФФЕКТЫ ПРОВОДИМОЙ ИНТРАОПЕРАЦИОННОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ГЛИОМАХ

А.Ю. Рында, В.Е. Олюшин, Д.М. Ростовцев,
Ю.М. Забродская

*РНХИ им. проф. А.Л. Поленова – филиал ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург
e-mail: artemii.rynda@mail.ru*

Ключевые слова: глиобластома, фотодинамическая терапия, ABCG2-транспортёры, выживаемость

Введение. ABC-транспортёры – мембранные насосы, которые используют аденозинтрифосфат для оттока эндогенных малых молекул, таких как желчные кислоты, холестерин, ионы и пептиды, через клеточные мембраны. Они также играют ключевую роль в детоксикации и защите от ксенобиотиков благодаря своей способности выводить лекарства из клетки, обеспечивая защиту от цитотоксических агентов. Было показано, что нормальные и раковые стволовые клетки экспрессируют высокие уровни переносчиков ABC, которые обычно неактивны в более дифференцированных клетках. Анализ данных литературы показывает, что злокачественные глиальные клетки со сверхэкспрессией ABCG2 обладают сниженной внутриклеточной аккумуляцией фотосенсибилизаторов в сравнении с клетками, имеющими менее выраженную степень анаплазии. Клетки со сверхэкспрессией ABCG2 также демонстрируют снижение внутриклеточной флуоресценции фотосенсибилизаторов.

Цель исследования – анализ влияния уровня экспрессии ABCG2-транспортёров на эффекты проводимой ФДТ при злокачественных глиомах.

Материалы и методы. Всего в РНХИ проф. А.Л. Поленова проанализированы результаты лечения 20 пациентов с ГБ. Проведен анализ уровня экспрессии транспортёров ABCG2 и влияния на медиану выживаемости у пациентов с проведенной интраоперационной ФДТ. Фотосенсибилизатором для проведения ФДТ послужил хлорин е62 поколения фотодитазин (ООО «Вета-Гранд», Россия). В качестве источника излучения для ФДТ задействован полупроводниковый лазер «Латус 2,5» (ООО «Аткус» совместно с АО «Полупроводниковые приборы», Санкт-Петербург) с длиной волны 665 нм, что соответствует пику поглощения хлорина е6 с максимальной мощностью 2,5 Вт. У всех пациентов проводился анализ уровня экспрессии ABCG2-транспортёров.

Результаты. Получены данные о том, что злокачественные клетки ГБ характеризуются высокой экспрессией нескольких ABCG2-транспортёров. Показано, что экспрессия уровня ABCG2-переносчиков коррелирует с эффектами проводимой ФДТ и ХТ и влияет на выживаемость пациентов с ГБ, а также может ис-

пользоваться в качестве прогностического биомаркера. Медиана выживаемости у больных ГБ составила $22,7 \pm 3,5$ мес при низкой экспрессии ABCG2, а при высокой экспрессии ABCG2 – $11,6 \pm 1,9$ мес ($p = 0,0001$).

Заключение. Злокачественные глиомы характеризуются различными генетическими и эпигенетическими абберациями, влиянием микроокружения на опухоль, наличием раковых стволовых клеток, которые делают опухоль более агрессивной, инвазивной и резистентной к методам лечения. Значительную роль в этом сложном процессе играют ABCG2-транспортёры, локализованные в опухолевых клетках.

МУТАЦИИ В ОНКОГЕНАХ GNAQ И GNA11 И ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ABCB1 У БОЛЬНЫХ МЕЛАНОМОЙ РАДУЖКИ

С.В. Саакян^{1,2}, И.В. Свирина¹, А.Ю. Цыганков^{1,2},
А.М. Бурденный³, В.И. Логинов³

*¹ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца»
Минздрава России, Москва;*

*²ФГБОУ ВПО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова»
Минздрава России, Москва;*

*³ФГБУН «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва
e-mail: svirinairina603@gmail.com*

Ключевые слова: увеальная меланома, меланома радужки, циркулирующая опухолевая ДНК, GNAQ, GNA11, ABCB1

Введение. Увеальная меланома (УМ) – наиболее распространенная первичная внутриглазная злокачественная опухоль у взрослых, которая может возникнуть в любой части увеального тракта – от радужки до хориоидеи. Меланома хориоидеи составляет до 90 % всех случаев УМ, 5–8 % развивается в цилиарном теле и только 3–5 % локализуется в радужке. Для УМ характерно агрессивное прогрессирующее течение с высоким риском метастазирования, при этом меланома радужки обладает более благоприятным прогнозом, что может быть связано с более ранней обращаемостью пациентов и выявлением опухоли на ранних стадиях заболевания. В последние годы более значимую роль играют молекулярно-генетические методы исследования. Мутации GNAQ и GNA11 относятся к наиболее распространенным генным абберациям при УМ, данные мутации чаще наблюдаются при меланоме хориоидеи и цилиарного тела, но также описаны случаи и при меланоме радужки. Имеются единичные работы, посвященные молекулярно-генетическому профилю меланомы радужки, и при этом не проводились ассоциации с клинико-морфологическими характеристиками опухоли, что диктует необходимость изучения указанных взаимосвязей.

Цель исследования – анализ частоты мутаций в генах GNAQ/GNA11 в циркулирующей опухолевой ДНК, ткани опухоли и генотипов полиморфного маркера C3435T гена ABCB1 у пациентов с меланомой радужки.

Материал и методы. В настоящее исследование включены 139 пациентов с УМ за период 2011–2023 гг. Всем пациентам проведено стандартное и специальное офтальмологическое обследование, включая ультразвуковое дуплексное сканирование и ультразвуковую биомикроскопию. Все пациенты находились под динамическим наблюдением, срок наблюдения составлял от 3 до 132 ($29,6 \pm 30,6$) мес. Пациенты разделены на исследуемые группы в зависимости от характера опухолевого очага. В 1-ю группу вошли 20 пациентов с меланомой радужки. Средний возраст пациентов в группе составил $52,6 \pm 12,8$ (30–72) года. В данной группе преобладали женщины – 65 % ($n = 13$) по сравнению с мужчинами – 35 % ($n = 7$). У 3 (15 %) пациентов отмечен отягощенный семейный анамнез по онкологическим заболеваниям различных локализаций. Вторую группу составили 26 пациентов с меланомой радужки с распространением в цилиарное тело. Средний возраст пациентов в группе составил $59,7 \pm 13,8$ года (33–80 лет). Женщины составили 57,7 % ($n = 15$), мужчины – 42,3 % ($n = 11$). Отягощенный семейный анамнез по онкологической патологии определен у 23,1 % ($n = 6$) больных. В 3-ю группу вошли 30 пациентов с УМ за 2012 г. Средний возраст пациентов в группе – $51,3 \pm 12$ лет (23–72 года). Из них женщин – 60 % (18), мужчин – 40 % (12). У 11 (36,7 %) пациентов отмечен отягощенный семейный анамнез по онкологическим заболеваниям различных локализаций. Морфологически диагноз УМ был верифицирован во всех случаях.

Результаты. В 1-й группе не выявлены мутации в генах *GNAQ/GNA11*. Во 2-й группе одна гетерозиготная мутация в генах *GNAQ/GNA11* выявлена у 2 (7,7 %) пациентов. Значимых ассоциаций с клиническими и патоморфологическими признаками не выявлено ($p > 0,1$). В группе сравнения у 27 (90 %) пациентов выявлены мутации в генах *GNAQ/GNA11*. При сравнении частоты гетерозиготной мутации в генах *GNAQ/GNA11* получены достоверные отличия между опытными группами и группой сравнения ($F = 0,0000001$, $\chi^2 = 56,45$). Генотип СС полиморфного маркера С3435Т гена *ABCB1* в 1-й группе встречался в 90 % ($F = 0,026418$, $\chi^2 = 5,36$, значимо чаще по сравнению с 3-й группой), во 2-й группе – в 92,3 % ($F = 0,006183$, $\chi^2 = 7,75$ значимо чаще по сравнению с 3-й группой), в 3-й группе – в 60 %. Генотип ТТ ни в одной группе не выявлен.

Заключение. В настоящем исследовании показано, что частота мутаций в генах *GNAQ* и *GNA11*, частота генотипа СТ полиморфного маркера С3435Т гена *ABCB1* при меланомах радужки значимо ниже, чем при меланоме хориоидеи, что свидетельствует об относительно благоприятном течении опухолевого процесса.

ГЕРМИНАЛЬНЫЕ МУТАЦИИ В ГЕНАХ *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *PALB2* У ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И ПАЦИЕНТОК С РАКОМ ЯИЧНИКОВ, ПРОЖИВАЮЩИХ В РЕСПУБЛИКЕ КРЫМ

Г.М. Салиева, А.В. Кубышкин, И.И. Фомочкина,
А.В. Камышева

ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет
им. В.И. Вернадского», Ордена Трудового красного знамени
Медицинский институт, Симферополь
e-mail: gyuzelsaliev@gmail.com

Ключевые слова: рак яичников, *BRCA1*, *CHEK2*, герминальные мутации 470Т>С

Введение. Рак яичников характеризуется высокой молекулярно-генетической гетерогенностью. Частота и спектр мутаций, индуцирующих развитие РЯ, варьирующ в зависимости от географической и этнической принадлежности. Изучение мутационного профиля региона – важная задача для профилактики и тактики лечения онкологических заболеваний.

Цель исследования – выявить носителей мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *PALB2* среди здоровых женщин и пациенток с диагнозом РЯ, проживающих в Республике Крым; оценить частоту и спектр мутаций в указанных генах, а также их вклад в развитие РЯ.

Материалы и методы. В исследовании участвовали 100 женщин различных этнических групп, постоянно проживающих в Крыму. 60 женщин с РЯ составили группу исследования. В контрольную группу были включены 40 здоровых женщин с неотягощенным семейным онкологическим анамнезом. Выявление мутаций осуществляли с помощью ПЦР-РВ с использованием набора HRR-скрининг, включающего специфические праймеры для детекции мутаций в генах наследственной предрасположенности к РЯ и РМЖ.

Результаты. Мутации в гене *BRCA1* обнаружены у 5 в группе исследования, что составило 12,0 %. Спектр мутаций включал с. 5382insC (2,4 %), с. 300Т>G (2,4 %), с. 185delAG (2,4 %), с. 4153delA (4,8 %). Все носительницы отнесли себя к русской национальности; в семейной истории отмечены РМЖ (4/5; 80 %), РЯ (2/5; 40 %), РЖ (1/5; 20 %). В контрольной группе *BRCA1*-мутации не были обнаружены. В гене *CHEK2* обнаружена мутация с. 470Т>С у 2 (4,8 %) женщин группы исследования и у 4 (9,6 %) женщин контрольной группы. Носительницы мутаций указали на наличие РМЖ и рака кишечника у родственников. Средний возраст пациенток составил 45,6 года (53,5 и 39,5 года для группы исследования и контрольной группы соответственно). Одна из женщин с мутацией из контрольной группы принадлежит к татарскому этносу. Мутации в генах *BRCA2* и *PALB2* не были обнаружены.

Заключение. Среди больных РЯ преобладают герминальные мутации в гене *BRCA1*, однако суммарно в обеих исследованных группах наибольшей частотой встречаемости характеризуется мутация *CHEK2*с.

470T>C, которую часто относят к низкопенетрантным. До сегодняшнего дня ведутся дискуссии о вкладе этого патологического варианта в развитие ЗНО различной локализации, однако на нынешнем этапе можно рекомендовать включение данной мутации в диагностические панели в Крыму.

Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках государственного задания в сфере научной деятельности Минобрнауки России (№ FZEG-2020-0060, «Алгоритмы молекулярно-генетической диагностики злокачественных новообразований и подходы к их таргетной терапии с применением клеточных и генетических технологий»).

АБЕРРАНТНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ МИКРОРНК МОЧИ КАК МАРКЕР КАСТРАЦИОННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

М.М. Сайткулова^{1,2}, О.Е. Брызгунова^{2,3}, Е.А. Мурина², И.А. Остальцев³, С.В. Пак³, С.Э. Красильников³, П.П. Лактионов^{2,3}, М.Ю. Коношенко^{2,3}

¹ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск;

²ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск;

³ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России, Новосибирск
e-mail: watermelory@inbox.ru

Ключевые слова: аберрантная экспрессия, рак предстательной железы, микроРНК мочи

Введение. Каstrationно-резистентный рак предстательной железы (КР РПЖ) развивается в течение 5 лет у 10–20 % пациентов, проходящих гормональное лечение по поводу ЗНО простаты. КР РПЖ является агрессивным фенотипом этого рака, так как обладает устойчивостью к терапии и имеет плохой прогноз — 5-летняя выживаемость таких больных составляет 30 %. Ранняя диагностика данной формы затруднена ввиду отсутствия характерной симптоматики и специфичных маркеров. Многолетние исследования микроРНК, коротких некодирующих нуклеиновых кислот, доказывают их прямое участие в онкогенезе РПЖ, а согласно последним данным — и в ключевых этапах развития КР РПЖ. Абerrантная экспрессия микроРНК у пациентов с РПЖ может свидетельствовать о приобретении ими каstrationной резистентности.

Цель исследования — разработка панели для диагностики КР РПЖ на основе оценки уровня экспрессии 14 различных микроРНК (miR-19b, -22, -30e, -31, -92a, -125b, -144, -200b, -205a, -222, -375, -378, -425, -660) в составе внеклеточных везикул и бесклеточной фракции мочи.

Материалы и методы. Образцы мочи здоровых доноров ($n = 22$), больных гормоночувствительным РПЖ ($n = 22$) и КР РПЖ ($n = 22$) были получены из НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина. Бесклеточная фракция была получена последовательным центрифугированием мочи, внеклеточные везикулы — методом агрегации-преципитации. МикроРНК из обеих фракций были выделены с помощью стекловолнистых сорбентов в присутствии октановой кислоты. Относительная экспрессия микроРНК была оценена методом stem-loop ОТ-ПЦР. Статистическая обработка выполнена с использованием MedCalc Statistical Software.

Результаты. Однофакторный дисперсионный анализ ANOVA выявил 44 дифференциально-экспрессированные пары микроРНК ВВ и 32 пары микроРНК бесклеточной фракции. Относительная экспрессия 8 пар микроРНК внеклеточных везикул и 5 пар микроРНК бесклеточной фракции достоверно отличалась между всеми исследуемыми группами доноров. Пациенты с КР РПЖ достоверно отличались от пациентов с гормоночувствительным РПЖ и здоровых доноров по относительной экспрессии 28 и 21 пар микроРНК внеклеточных везикул, 20 и 21 микроРНК бесклеточной фракции соответственно. Больные гормоночувствительным РПЖ и здоровые доноры характеризовались достоверно различным уровнем экспрессии 14 пар микроРНК внеклеточных везикул и 3 пар микроРНК бесклеточной фракции. На основе полученных данных сформированы 2 панели, состоящие из 6 пар микроРНК внеклеточных везикул и 6 пар микроРНК бесклеточной фракции и позволяющие диагностировать 100 % больных КР РПЖ.

Заключение. На основе анализа относительной экспрессии микроРНК внеклеточных везикул мочи выявлены пары микроРНК — потенциальные маркеры КР РПЖ. Сформированы 2 панели, включающие по 6 пар микроРНК внеклеточных везикул и бесклеточной фракции из 8 различных микроРНК (miR-19b, -30e, -1, -125b, -200b, -205a, -375, -660), каждая из которых позволяет достоверно разделить группы больных гормоночувствительным РПЖ и КР РПЖ, а также группы здоровых доноров и больных КР РПЖ со 100 % чувствительностью при 100 % специфичности.

ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРА И ЧАСТОТЫ ГЕРМИНАЛЬНЫХ МУТАЦИЙ В ОНКОАССОЦИИРОВАННЫХ ГЕНАХ У ДЕТЕЙ С СОЛИДНЫМИ ОПУХОЛЯМИ

В.В. Семенова^{1,2}, Е.В. Жуковская³, В.М. Козлова², И.О. Барина¹, Т.С. Бельшева², Е.В. Шарипова², Г.Б. Сагоян², А.М. Сулейманова², С.Н. Михайлова², А.Ф. Карелин³, С.Р. Варфоломеева², Т.В. Наседкина^{1,3}

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

²НИИ детской онкологии и гематологии ФГБУ

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

³ЛРНИЦ «Русское поле» ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия
Рогачева», Москва
e-mail: mol.gen.imb@gmail.com

Ключевые слова: наследственные опухолевые синдромы, дети, герминальные мутации, высокопроизводительное секвенирование

Введение. Среди онкологических заболеваний у детей около 10 % случаев приходится на наследственные формы. Для опухолевых заболеваний, связанных с наследственными синдромами, характерна ранняя манифестация, агрессивное течение и склонность к первично-множественному поражению. Многие синдромы, ассоциированные с развитием солидных опухолей, имеют выраженный полиморфизм клинических проявлений.

Цель исследования — изучение спектра и частоты встречаемости герминальных мутаций в онкоассоциированных генах у детей с солидными опухолями для оценки вклада наследственной предрасположенности в развитие заболевания.

Материалы и методы. В исследование вошли 564 пациента детского возраста от 0 до 18 лет (средний возраст 9,8 года) с опухолями мозга, щитовидной железы, нефробластомой, нейробластомой, костными и мягкоткаными саркомами, опухолями ЖКТ, опухолями кожи, первично-множественными опухолями. Образцы ДНК лейкоцитов крови исследовали с помощью высокопроизводительного секвенирования кодирующих участков 415 онкоассоциированных генов (*NextSeq, Illumina*).

Результаты. Клинически значимые герминальные варианты выявлены у 119 (21 %) пациентов в 44 генах, ассоциированных с развитием опухолевых заболеваний. Самый высокий процент герминальных мутаций обнаружен у детей с раком кожи (64 %), развитие которого было связано с вариантами в генах *PTCH1, XPA, XPC*. Высокую частоту патогенных вариантов наблюдали у пациентов с первично-множественными опухолями (43 %), опухолями щитовидной железы (24 %), нефробластомой (18 %), костными саркомами (18 %), опухолями мозга (17 %). Наиболее широкий спектр опухолей был ассоциирован с мутациями в гене *NF1* ($n = 24$), среди них: астроцитомы (12,5 %), глиомы зрительных путей (37,5 %), эпендимомы (4 %), прочие опухоли центральной нервной системы (8,3 %), рабдомиосаркома (12,5 %), опухоли почек (8,3 %), другие опухоли (16,6 %). Также большое разнообразие опухолевых проявлений было отмечено у носителей вариантов в генах *BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, MUTYH*, которые относятся к генам взрослых синдромов предрасположенности к раку (частота мутаций составила 5,3 %). Мутации в генах *WT1, REST, TRIM28* были специфичны для нефробластомы.

Заключение. Понимание взаимосвязей между генотипом и возможными вариантами клинических

проявлений у различных когорт пациентов имеет большое значение для выбора правильной тактики наблюдений с целью ранней диагностики ЗНО.

СТРАТЕГИЯ УСИЛЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ИММУНИТЕТА

Н. И. Султанбаева^{1,2}, И. А. Тузанкина^{3,4}, А. В. Султанбаев¹,
Ш. И. Мусин^{1,2}, К. В. Меньшиков^{1,2}, И. А. Меньшикова²,
М. В. Султанбаев², Д. А. Кудлай^{5,6}

¹ГАОУ «Республиканский клинический онкологический
диспансер» Минздрава РБ, Уфа;

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

³ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского
отделения РАН, Екатеринбург;

⁴ГАОУ Свердловской области «Областная детская
клиническая больница», Екатеринбург;

⁵ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова» Минздрава
России (Сеченовский Университет), Москва;

⁶ФГБУ «Государственный научный центр
«Институт иммунологии» Федерального
медико-биологического агентства, Москва
e-mail: art@rkodrb.ru

Ключевые слова: иммунитет, меланома, иммунологическая оценка

Введение. Количественные показатели эксцизионных колец рекомбинации — отражение формирования различного репертуара Т-клеточных рецепторов, которые являются неотъемлемым компонентом в формировании специфического противоопухолевого иммунитета. Исследование количественных значений TREC позволит оценить иммунный статус онкобольных.

Цель исследования — определение количественных показателей TREC для иммунологической оценки больных с меланомой.

Материалы и методы. В исследование вошли 55 здоровых человек и 82 пациента с меланомой кожи. Количественный анализ TREC проводили с использованием набора реагентов ИММУНО-БИТ (АБВ-тест, Россия) методом ПЦР-РВ. Анализатор: амплификатор Real-time CFX96, Bio-Rad Laboratories, США. Детектирующий амплификатор — ДТ-96, ДНК-Технология, Россия. Аналитическая чувствительность тест-системы 1×10^3 копий/мл. Аналитическая специфичность тест-системы 100 %.

Результаты. В основную группу исследования вошли 82 пациента, в контрольную группу — 55 здоровых человек. Среди последних доля пациентов мужского пола составила 49,1 % (27 из 55), женского пола — 50,9 % (28 из 55). Среди больных с ЗНО доля пациентов мужского пола составила 36,5 % (32 из 82), женского пола — 63,5 % (50 из 82). Среди включенных в исследование пациентов с различной локализацией меланомы отмечены разные стадии по международной классификации TNM 8: IA стадия — 8 пациентов,

IV стадия – 7, ПА стадия – 7, ПВ стадия – 14, ПС стадия – 10, ПШВ стадия – 6, ПШС стадия – 30 пациентов. Основная доля пациентов в зависимости от наличия мутаций в гене *BRAF* была направлена на адьювантную терапию. В здоровой популяции установлены статистически значимые различия в показателях TREC между возрастными группами 18–24 года, 25–44 года, 45–60 лет и 60 лет и старше. По данным исследования у здоровых людей медиана уровня TREC с увеличением возраста имела тенденцию к снижению, что является отражением возрастных изменений потенциала формирования специфического иммунитета. У женщин медиана уровня TREC составила 89,7 (Q_1-Q_3 : 25,9–258,7). У мужчин медиана уровня TREC составила 50 (Q_1-Q_3 : 31,3–170,1). Статистически значимых различий в уровне TREC между здоровыми женщинами и мужчинами не выявлено ($p = 0,9$). У больных с меланомой в совокупности до оказания специализированной медицинской помощи уровень TREC составил 7,56 (Q_1-Q_3 : 2,1–19,3). Результаты анализа уровня TREC у пациентов с меланомой продемонстрировали, что у группы пациентов с прогрессированием заболевания отмечается более низкий уровень показателей на этапе инициации. На фоне адьювантной терапии при оценке через 3 мес нами отмечено увеличение уровня TREC.

Заключение. Полученные результаты демонстрируют значимое снижение содержания TREC у пациентов с меланомой в сравнении со здоровыми людьми.

АНАЛИЗ ТРАНСФЕРРИНА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКА И РАКОМ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ С ПОМОЩЬЮ ОДНОДОМЕННЫХ АНТИТЕЛ

С.В. Тиллиб¹, А.М. Сачко¹, О.С. Горяйнова¹, Т.И. Иванова^{1,2}, И.Ю. Николаева³, М.Е. Тарнопольская³, А.Ю. Бычков³, М.Я. Гаас⁴, Н.В. Воробьев^{5,6}, А.Д. Каприн^{4,7}, П.В. Шегай^{4,7}

¹ФГБУН «Институт биологии гена РАН», Москва;

²МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск;

³ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва;

⁴ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва;

⁵МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва;

⁶ФГАУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России

(Сеченовский Университет), Москва;

⁷ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва
e-mail: tillib@genebiology.ru

Ключевые слова: однодоменное антитело, нанотело, трансферрин, аффинная хроматография, рак мочевого пузыря, рак яичников

Введение. Изучение факторов канцерогенеза и поиск потенциальных маркеров актуален, поскольку

смертность от ЗНО высока. Выявлены ассоциации между нарушением метаболизма железа и ЗНО. Трансферрин (Tf) – основной белок, участвующий в транспорте железа. В норме в крови примерно 30 % Tf связано с железом. Для анализа изменений представленности разных форм Tf (насыщенного железом – holo-Tf и ненасыщенного – apo-Tf) нами получены и охарактеризованы высокоспецифические однодоменные антитела (нанотела), узнающие holo-Tf или apo-Tf.

Цель исследования – анализ holo-Tf и apo-Tf в крови и моче пациентов с ЗНО.

Материалы и методы. В плазме 8 пациенток с диагнозом серозной аденокарциномы яичников высокой степени злокачественности и 3 здоровых женщин, а также в 13 образцах мочи первичных больных с диагнозом уротелиальной карциномы мочевого пузыря, находящихся на лечении в НМИЦ радиологии Минздрава России, анализировали соотношение holo-Tf/apo-Tf методом иммуноаффинного фракционирования, применяя иммуносорбенты на основе полученных нами нанотел к различным формам Tf. Образцы плазмы и мочи наносили на индивидуальные колонки. Связавшиеся белки элюировали и фракционировали с помощью электрофореза в 5–19 % градиентном SDS-полиакриламидном геле по Лэммли. Белки в геле окрашивали Imperial Protein Stain (Thermo Fisher Scientific, США).

Детекцию ионов металлов, связанных с holo-Tf, проводили на квадрупольном масс-спектрометре SUPEC 7000 (Focused Photonics Inc., Китай) с ионизацией в индуктивно-связанной плазме.

Результаты. Показано, что повышение концентрации общего Tf в образцах мочи, нормализованных по креатинину, ассоциировано со степенью прогресса и роста злокачественности уротелиальной карциномы мочевого пузыря. Концентрация apo-Tf заметно увеличена по отношению к holo-Tf для большинства образцов мочи больных с уротелиальной карциномой мочевого пузыря и в крови пациенток с поздними стадиями серозной аденокарциномы яичников по сравнению с контролями ($p = 0,01$). Показано, что нанотело, узнающее holo-Tf, способно связывать Tf в ассоциации не только с железом, но и с ионами металлов. В моче 3 больных уротелиальной карциномой мочевого пузыря обнаружено примерно равное количество apo-Tf и holo-Tf. Фракция holo-Tf у этих пациентов обогащена не железом, а цинком и никелем.

Заключение. Анализ соотношения holo-Tf/apo-Tf и изменений в спектре ионов металлов, связанных с holo-Tf, в плазме и моче может быть полезным для ранней диагностики серозной аденокарциномы яичников и уротелиальной карциномы мочевого пузыря.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 20-14-00305-П).

МЕТОД НЕИНВАЗИВНОЙ ДИАГНОСТИКИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА НА ОСНОВАНИИ ОЦЕНКИ ЦЕЛОСТНОСТИ ДНК С ПОМОЩЬЮ ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ

А.Д. Шахматова¹, Г.М. Бутрович¹, Е.Д. Мирлина¹,
С.С. Емельянова¹, Ю.В. Киль¹, О.А. Вострюхина¹,
И.Г. Хабарова², В.Н. Вербенко¹

¹ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики
им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт»,
Гатчина;

²Центр амбулаторной хирургии при Поликлинике КБ РАН,
г. Санкт-Петербург
e-mail: rykhlova_ad@npfi.nrcki.ru

Ключевые слова: колоректальный рак, ранняя диагностика, метод полимеразной цепной реакции в реальном времени

Введение. Высокий уровень встречаемости КРР и явная связь успешного излечения с ранней диагностикой заболевания объясняет необходимость регулярного обследования здоровых индивидуумов, особенно входящих в группу риска. По этой причине становится все более актуальной разработка неинвазивных методов ранней диагностики КРР, которые можно использовать в скрининговых программах.

Цель исследования — оценка эффективности диагностики КРР на основе анализа целостности ДНК методом ПЦР-РВ по сравнению с методом неинвазивной диагностики КРР на основе ПЦР с визуализацией продуктов амплификации с помощью электрофореза в полиакриламидном геле.

Материалы и методы. Выделение геномной ДНК из фекалий пациентов производили с использованием набора «ДНК-сорб-В» фирмы «АмплиСенс» (Москва). Для проведения ПЦР-РВ использовали HS Taq ДНК-полимеразу при амплификации коротких фрагментов и набор Epcyclo Plus PCR kit при амплификации протяженных фрагментов. Для визуализации результатов использовался интеркалирующий краситель SYBR Green I. Реакцию проводили на детектирующем амплификаторе CFX96 (BioRad, США). Для анализа возможного ингибирования ПЦР применяли в качестве стандарта коммерческую ДНК человека. Анализ эффективности проводили с использованием программного приложения CFX96.

Результаты. ПЦР-РВ была проведена на образцах фекалий 40 пациентов. Праймеры были идентичны использованным при стандартной ПЦР. Условия амплификации были изменены в соответствии с особенностями проведения ПЦР-РВ. Результаты анализа протяженных фрагментов оказались идентичными при использовании обоих методов. Эффективность ПЦР протяженных фрагментов составила 80–88 %. Анализ возможного ингибирования ПЦР проводился в 2 вариантах и не обнаружил значимого ингибирования.

Заключение. Метод ПЦР-РВ обеспечивает анализ целостности ДНК в образцах фекалий пациентов и позволяет проводить неинвазивную диагностику КРР. Разработанная процедура диагностики КРР отличается быстротой, дешевизной, высокой чувствительностью и специфичностью.

Патент на изобретение № 2586775
«Способ неинвазивной диагностики колоректального рака», зарегистрирован 18 мая 2016 г.
«Евроген», Москва.

ДИНАМИКА ЭКСПРЕССИИ МИКРОРНК ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ МОЧИ ПОСЛЕ ТЕРАПИИ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е.В. Шутко^{1,2}, Г. Саллум², О.Е. Брызгунова², Е.А. Мурина²,
И.А. Остальцев³, С.В. Пак³, П.П. Лактионов^{2,3},
М.Ю. Коношенко²

¹ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский
государственный университет», Новосибирск;

²ФГБУН «Институт химической биологии
и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск;

³ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина»
Минздрава России, Новосибирск

e-mail: katshutko@gmail.com

Ключевые слова: внеклеточные везикулы мочи, рак предстательной железы

Цель исследования — анализ динамики экспрессии микроРНК внеклеточных везикул мочи у больных РПЖ после радикальной простатэктомии (РПЭ) или ЛТ для выявления наиболее значимых прогностических маркеров.

Материалы и методы. Образцы мочи 18 здоровых доноров, 22 больных РПЖ до и после РПЭ (через 3, 6 и 12 мес) и 10 больных РПЖ до и после ЛТ (через 3, 6 и 12 мес) получены из НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина. Внеклеточные везикулы были выделены из образцов мочи методом агрегации-преципитации с использованием полиэтиленгликоля и декстрана синего; из полученной фракции внеклеточных везикул выделены микроРНК. Данные о пороговых циклах детекции 14 микроРНК, вовлеченных в механизмы развития РПЖ, в образцах доноров получены методом ОТ-ПЦР.

Результаты. С использованием дисперсионного анализа повторных измерений были выявлены 22 и 40 пар (метод парной нормировки) микроРНК, достоверно изменивших экспрессию после РПЭ или ЛТ соответственно. На основе анализа динамики экспрессии выявленные пары микроРНК можно разделить на 3 различные группы с одинаковыми для обоих видов терапии паттернами изменения экспрессии. Наиболее значимыми критериями для разделения пар микроРНК на группы были признаны: направление изменения экспрессии после терапий и достоверные различия между уровнями экспрессии микроРНК до лечения

и через год после него. Таким образом, основной интерес с точки зрения оценки эффективности терапии представляют собой 10 и 27 пар микроРНК, относительная экспрессия которых после РПЭ или ЛТ соответственно приблизились к таковой у здоровых доноров, в том числе 5 пар, обладающих универсальной маркерной функцией, т. е. пары, в перспективе подходящие для оценки эффективности и РПЭ, и ЛТ. Кроме того, было выявлено 20 пар микроРНК, на основе значимых различий экспрессии которых пациентов можно разделить на достоверно различные подгруппы через 3 или 6 мес после РПЭ, а также 21 пара микроРНК, по уровню экспрессии которых через 1 год после ЛТ пациенты с признаками биохимического рецидива значительно отличались от остальных доноров.

Заключение. Описана годовая динамика экспрессии микроРНК внеклеточных везикул мочи после РПЭ или ЛТ. Выявлены пары микроРНК – потенциальные маркеры эффективности РПЭ и ЛТ. Анализ уровня относительной экспрессии микроРНК является перспективным методом оценки эффективности терапии онкозаболеваний.

АНАЛИЗ ПРОТЕОМА ЭКСОСОМ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ, ИМИТИРУЮЩИХ РАЗЛИЧНЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПОДТИПЫ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, ДЛЯ ПОИСКА БЕЛКОВ – КАНДИДАТОВ В МАРКЕРЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ МЕТОДОМ ЖИДКОСТНОЙ БИОПСИИ

А.А. Шефер^{1, 2}, Л.В. Яньшолле³, Т.А. Штам⁴,
Ю.П. Центалович³, С.Н. Тамкович^{1, 2}

¹Факультет естественных наук ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск;

²ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск;

³ФГБУН «Институт «Международный томографический центр» СО РАН», Новосибирск;

⁴ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина
e-mail: a.shefer@g.nsu.ru

Ключевые слова: рак молочной железы, жидкостная биопсия, маркер

Введение. Поскольку РМЖ является самым распространенным новообразованием среди женщин, ранняя диагностика данного заболевания является актуальной задачей современной медицины. Перспективными маркерами для выявления заболеваний жидкостной биопсией являются экзосомы – внеклеточные везикулы диаметром 30–150 нм, несущие тетраспаныны CD9, CD63 и CD81. Экзосомы секретируются все-

ми типами клеток, а их состав отражает состав родительских клеток.

Цель исследования – идентификация белков, пригодных для выявления различных подтипов РМЖ методом жидкостной биопсии.

Материалы и методы. Для идентификации опухолеассоциированных белков были получены экзосомы 2 клеточных линий псевдонормальных эпителиоцитов молочной железы, 3 линий, имитирующих люминальный А подтип, 1 линии, имитирующей люминальный В подтип, 1 линии, имитирующей HER2+ подтип и 4 линий, имитирующих трижды негативный подтип РМЖ. Экзосомы были охарактеризованы трансмиссионной электронной микроскопией, трековым анализом и проточной цитофлуориметрией. Анализ мажорных белков экзосом проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии.

Результаты. В составе экзосом клеточных линий суммарно идентифицировано 559 белков, из них 42 белка – общие для клеточных линий псевдонормальных эпителиоцитов и линий, имитирующих РМЖ. Методом сравнительного протеомного анализа идентифицировано 3 белка, общих для всех подтипов РМЖ, 4 белка, характерных для люминальных подтипов, 4 белка, относящихся только к люминальному А подтипу, 1 белок, характерный для HER2+ подтипа, и 3 белка, относящихся к трижды негативному подтипу РМЖ.

Заключение. Показаны значительные различия в белковом составе экзосом, секретируемых клеточными линиями, имитирующими различные молекулярные подтипы РМЖ. Установлено, что содержимое экзосом отличается от депонированной в базе данных Human Protein Atlas информации о гиперэкспрессируемых белках в опухолевой ткани молочной железы, что косвенно доказывает направленный сортирование белков в экзосомы. Создана панель из белков – кандидатов в маркеры подтипов РМЖ методом жидкостной биопсии.

СОЗДАНИЕ АЛГОРИТМА АВТОМАТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ИЗОБРАЖЕНИЙ МОЛЕКУЛЯРНОГО МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ИМИДЖИНГА

И.Д. Щечкин^{1, 2}, С.А. Родимова^{1, 2}, Н.В. Бобров¹,
А.М. Можеров¹, Д.С. Кузнецова^{1, 2}

¹ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Нижний Новгород;

²ННГУ им. Лобачевского, Россия, Нижний Новгород
e-mail: Iliahasa1992@gmail.com

Ключевые слова: микроскопия, флуоресценция ткани печени, нейронные сети

Введение. Флуоресцентная время-разрешенная микроскопия (FLIM) – метод, основанный на анализе времен жизни флуоресценции эндогенных флуорофоров, в частности никотинамидадениндинуклеотида

(НАД(Ф)Н), для описания затухания которого использовалась трехэкспоненциальная модель, где параметрам a_1 , a_2 и a_3 соответствуют вклады свободной, связанной и фосфорилированной форм НАД(Ф)Н, соответственно, в общее время жизни. Кривая затухания флуоресценции НАД(Ф)Н может служить индикатором метаболических трансформаций: рост a_1 коррелирует с усилением анаэробного гликолиза, рост a_2 связан с усилением окислительного фосфорилирования, изменение a_3 соответствует изменению синтетической функции ткани.

Цель исследования – создать алгоритм на основе нейронных сетей, способный определять характеристики флуоресценции ткани печени на основе FLIM-изображений.

Материалы и методы. Была использована модель регенерации печени (18 крыс Wistar), которая вызывалась путем резекции печени с удалением разного объема (30 и 70 % массы) ткани. Печень забирали на 7-е сутки после резекции и проводили визуализацию методом FLIM. Пул изображений состоял из 80 изо-

бражений контроля, 11 – при 30 % резекции, 17 – при 70 % резекции. Для изображений были размечены границы клеток в качестве масок для обучения нейронной сети. Изображения были аугментированы.

Результаты. Пул был использован как тренировочный для обучения нейронной сети, основанной на трехканальном Unet++ с использованием многокомпонентной функции потерь, включающей BSA, Focal и Dice функции. Нейронная сеть была обучена выделять границы клеток, предсказания использовались для проведения Instance-сегментации, точность составила более 0,8. Полученные ROI использовались для расчета изменения флуоресценции на основе экспоненциально модифицированной гауссовой функции.

Заключение. Был разработан алгоритм, способный определять границы клеток с высокой точностью, выделять их на FLIM-изображении и рассчитывать соответствующие им параметры флуоресценции: времена жизни компонент и их вклады.

Работа выполнена при поддержке РФФ (грант № 23-25-00100).

Молекулярно-биологические подходы к противоопухолевой терапии

ИЗМЕНЕНИЕ ФЕНОТИПА НК-КЛЕТОК В СОСТАВЕ ТРЕХМЕРНОЙ КЛЕТОЧНОЙ МОДЕЛИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ IL-15 И TGF-β

М.М. Абдурахманова¹, А.А. Леонтьева^{1,2}, А.А. Юрина^{2,3},
Т.Н. Беловежец³, С.В. Кулемзин³, Е.В. Кулигина¹,
В.А. Рихтер¹, А.А. Нуштаева¹

¹ФГБУН «Институт химической биологии
и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск;

²ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный
исследовательский государственный университет»,
Новосибирск;

³ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии
СО РАН», Новосибирск;
e-mail: m.abdurakhmanova98@gmail.com

Ключевые слова: НК-клетки, фенотип, трехмерная клеточная модель, рак молочной железы

Введение. Иммунотерапия НК-клетками – перспективный подход для лечения солидных опухолей. Клеточные 3D-модели представляют собой физиологически релевантные модели для оценки эффективности иммунотерапии *in vitro*.

Цель исследования – оценить трансформацию фенотипа первичных НК-клеток, полученных от здорового донора (PB-NK), в составе 3D-моделей рака молочной железы (PMЖ) при стимуляции интерлейкином (IL-15) или трансформирующим ростовым фактором β (TGF-β).

Материалы и методы. 3D-модели, состоящие только из опухолевых (3De), только из стромальных (3Df) и из совместно культивируемых опухолевых и стромальных клеток (3D-2) были получены в среде DMEM/F12 с добавлением ростовых факторов в планшетах с низкоадгезивным покрытием. В качестве опухолевых использовали клетки линии MCF7, в качестве стромальных – опухолевые (BrC120f), опухоль-ассоциированные (ОАФ, BrC4f) или нормальные (BN120f) фибробласты. К 3D и 3D-2 были добавлены PB-NK в соотношении 1:1. IL-15 или TGF-β добавляли одновременно с PB-NK. Изменение фенотипа PB-NK оценивали методом точной цитометрии.

Результаты. Используемые в работе НК-клетки – PB-NK – являются CD56^{dim}, поэтому действие IL-15 или TGF-β на фенотип PB-NK оценивали по изменению профиля рецепторов CD57, KIR и CD62L этих

клеток. Согласно данным литературы, «киллерная» активность CD56^{dim} NK-клеток коррелирует с экспрессией ингибирующих рецепторов из семейства KIR, в то время как стимуляция цитокинами CD56^{bright} NK-клеток коррелирует с экспрессией CD62L или CD57 (Luetke-Eversloh et al., 2013).

В данной работе показано: сокультивирование 3D-2, где стромальный компонент представлен ОАФ, с PB-NK способствует увеличению процента CD57⁺ NK-клеток; стимуляция 3Df из ОАФ, сокультивируемых с PB-NK, IL-15 или TGF-β увеличивает процент CD57⁺ NK-клеток; стимуляция посредством TGF-β 3Df как из BrC120f, так и из BN120f, при их сокультивировании с PB-NK снижает процент CD57⁺ NK-клеток, при сокультивировании 3D-2, вне зависимости от типа фибробластов, с PB-NK стимуляция IL-15, или TGF-β приводит к уменьшению процента CD62L⁺ NK-клеток, а при сокультивировании с 3De из MCF7 процент CD62L⁺ NK-клеток увеличивается; стимуляция IL-15 или TGF-β увеличивает процент CD62L⁺ NK-клеток при сокультивировании с 3Df из ОАФ, а с 3Df из BrC120f и BN120f – снижает; наблюдалась тенденция к увеличению количества KIR⁺ PB-NK при сокультивировании с 3De только из MCF7.

Заключение. Стимуляция IL-15 или TGF-β приводит к изменению фенотипа НК-клеток и может способствовать повышению их цитотоксической активности.

*Исследование поддержано
в рамках государственного задания ИХБФМ СО РАН
№ 12211070001-5.*

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРАПИИ ГЛИБЛАСТОМЫ ЧЕЛОВЕКА КОМБИНАЦИЕЙ ОНКОЛИТИЧЕСКОГО ВИРУСА VV-GMCSF-LACT И ТЕМОЗОЛОМИДА

А.Б. Агеенко¹, Н.С. Васильева^{1,3}, А.А. Бывакина¹,
Г.В. Кочнева², В.А. Рихтер¹, Е.В. Кулигина^{1,3}

¹ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной
медицины СО РАН», Новосибирск;

²ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Новосибирск;

³ООО «Онкостар», Новосибирск
e-mail: a.ageenko@alumni.nsu.ru

Ключевые слова: глиобластома, виротерапия, VV-GMCSF-Lact, темозоломид

Введение. Виротерапия является одним из перспективных направлений для лечения многих типов опухолей, в том числе глиобластом (ГБ). Несмотря на преимущества данного подхода, онколитические вирусы имеют определенные ограничения, обусловленные природой самих вирусов. Таким образом, комбинированная терапия, в том числе совместно с темозоломидом (ТМЗ), который сегодня признан «золотым стандартом» лечения ГБ, может увеличивать противоопухолевый эффект и является многообещающим направлением для лечения данного типа опухолей.

Цель исследования — изучение эффективности комбинированной терапии ГБ человека рекомбинантным онколитическим вирусом VV-GMCSF-Lact совместно с ТМЗ (*in vitro* и *in vivo*).

Материалы и методы. Оценку цитотоксической активности VV-GMCSF-Lact, ТМЗ и комбинации препаратов *in vitro* проводили на клетках ГБ человека U87MG с использованием коммерческого набора Deep Blue Cell Viability Kit. Разработанные схемы лечения (VVGCSF-Lact, ТМЗ, VV-GMCSF-Lact+ТМЗ, ТМЗ+VV-GMCSF-Lact) далее применяли в отношении опухолей U87MG, подкожно трансплантированных иммунодефицитным мышам линии SCID.

Результаты. Результаты, полученные в ходе экспериментов *in vitro*, продемонстрировали то, что наибольший цитотоксический эффект в отношении клеток ГБ U87MG был достигнут при использовании терапевтической схемы ТМЗ+VV-GMCSF-Lact. При исследовании противоопухолевого действия предложенных схем лечения *in vivo* было показано, что объемы опухолей животных всех экспериментальных групп, кроме группы, получавшей лечение ТМЗ, были достоверно меньше объемов опухолей в контрольной группе. Наибольший противоопухолевый эффект продемонстрировала комбинация ТМЗ+VV-GMCSF-Lact, и индекс торможения роста опухоли в этой группе был равен 90 %. Индекс торможения роста опухоли в группе VV-GMCSF-Lact+ТМЗ составил 86 %, VV-GMCSF-Lact — 83 %, ТМЗ — 53 %.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что комбинированная терапия ГБ ТМЗ и онколитическим вирусом VV-GMCSF-Lact более эффективна в сравнении с монотерапией каждым из представленных препаратов как на моделях *in vitro*, так и *in vivo*. Таким образом, комбинированная терапия является перспективным направлением для лечения ГБ.

ДОЛГОСРОЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ ДЕКСАМЕТАЗОНА НА ТКАНЬ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЫШЕЙ

С.Д. Аладьев¹, Д.К. Соколов¹, Г.М. Казанская¹,
А.М. Волков², А.В. Стротова¹, С.В. Айдагулова^{1,3},
Э.В. Григорьева¹

¹НИИ молекулярной биологии и биофизики ФГБНУ «ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск;

²ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России, Новосибирск;

³ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск
e-mail: s.aladev@alumni.nsu.ru

Ключевые слова: дексаметазон, глюкокортикоидный рецептор, головной мозг

Введение. Дексаметазон (Dex) используется в клинике при лечении различных заболеваний, однако его длительное применение вызывает побочные эффекты. Молекулярные механизмы этих эффектов недостаточно изучены, особенно в отношении воздействия Dex на головной мозг и его внеклеточный матрикс, который состоит в основном из гликозилированных макромолекул протеогликанов (ПГ) и гликозаминогликанов (ГАГ).

Цель исследования — изучить долгосрочные эффекты Dex на экспрессию ПГ и содержание общих и сульфатированных ГАГ в нормальной ткани головного мозга мышей.

Материалы и методы. В работе использовали 2-месячных мышей линии C57Bl/6, которым вводили различные дозы Dex (0, 1; 1; 2,5; 10 мг/кг) и анализировали его долгосрочное (1–90 сут) влияние на экспрессию глюкокортикоидного рецептора (GR), ПГ ($n = 12$) и ферментов биосинтеза ГС ($n = 13$) (ОТ-полимеразная цепная реакция, вестерн-блот), уровень содержания ГАГ (дот-блот анализ, окрашивание альциановым синим с pH = 1,0 и pH = 2,5) в мозге мышей.

Результаты. Однократное введение Dex вызывало краткосрочное (на 1-е — 3-и сутки) повышение уровня экспрессии ПГ, ферментов биосинтеза ГС и GR с возвращением к норме на 7–10-е сутки. Многократное введение Dex приводило к дозозависимому повышению экспрессии ПГ бревикана, нейрокана и фосфакана-1 (60–90-е сутки) и ферментов биосинтеза ГС Ext1 и Ext2 (30–60-е сутки). При этом влияние Dex на содержание ГАГ имело неоднозначный характер, с повышением к 30-м суткам содержания общих ГАГ (+2 раза) и снижением содержания сульфатированных ГАГ (–1,5–2 раза), что может свидетельствовать о качественном изменении состава ГАГ в ткани мозга. Хотя на 90-е сутки все показатели и возвращались к контрольному уровню, но такие достаточно продолжительные изменения состава/структуры ткани головного мозга могут иметь значение для его функционирования.

Заключение. Dex оказывает долгосрочное воздействие на состав и структуру внеклеточного матрикса

ткани головного мозга, что может вносить свой вклад в молекулярные механизмы побочных эффектов глюкокортикоидов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 21-15-00285).

ВЛИЯНИЕ ДНКАЗЫ I НА ПРОЦЕССЫ КАНЦЕРОГЕНЕЗА И МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ ПРИ РАЗРУШЕНИИ ЦИРКУЛИРУЮЩЕЙ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК

Л.А. Алексеева, А.В. Сенькова, М.А. Зенкова,
Н.Л. Миронова

ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск
e-mail: alekseeva.mila.23@yandex.com

Ключевые слова: ДНКазы, внеклеточная ДНК, меланома, лимфосаркома, карцинома легких

Введение. Исследование внеклеточных ДНК (внДНК), обнаруживаемых в кровотоке пациентов с онкологическими заболеваниями, позволило поставить вопрос о роли внДНК в канцерогенезе. Опухольеспецифические внДНК могут трансфеницировать уязвимые клетки в органах-мишенях или интегрироваться в нейтрофильные ловушки, способствуя развитию метастазов. С учетом патологической роли внДНК в канцерогенезе ведутся разработки новых противоопухолевых препаратов на основе ДНКаз.

Цель исследования — изучение влияния ДНКазы I на процессы канцерогенеза и метастазирования при разрушении циркулирующей внДНК на экспериментальных опухолевых моделях и поиск ее молекулярных мишеней среди внДНК.

Материалы и методы. Мышам C57Bl прививали карциному легких Льюис LLC или меланому B16, мышам SW615 прививали лимфосаркому RLS₄₀ и вводили ДНКазу I (рекомбинантную человека, панкреатическую быка) ежедневно внутримышечно либо интраназально 2 раза в неделю. Эффект ДНКаз оценивали по снижению размера опухолевого узла, количества метастазов в легких и печени, по изменению ДНКазной активности крови и профиля внДНК (qPCR).

Результаты. Показано, что у мышей с карциномой легких LLC, меланомой B16 и лимфосаркомой RLS₄₀ скорость роста опухоли и метастазирования коррелирует с увеличением концентрации внДНК и снижением ДНКазной активности крови. Кроме того, в пуле внДНК наблюдается повышение представленности тандемных повторов, SINE и LINE элементов и фрагментов гена *Мус*. Терапия ДНКазой I приводила к снижению размера первичного опухолевого узла в 1,5–2 раза, количества и площади метастазов в печени и легких — в 3–10 раз. Снижение инвазивного потенциала опухолей сопровождалось восстановлением патологически повышенного уровня внДНК и сни-

женной ДНКазной активности до уровня здоровых животных, и, кроме того, коррелировало со снижением уровней тандемных повторов, SINE- и LINE-элементов и гена *Мус* в пуле внДНК.

Заключение. Полученные результаты позволяют предложить использовать ДНКазу I в качестве нового универсального противоопухолевого и антиметастатического препарата.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 22-14-00289).

КОМБИНИРОВАННАЯ ПРОТИВОРАКОВАЯ ТЕРАПИЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ ИНГИБИТОРОВ HSP70 И АУТОФАГИИ

Б.А. Алхасан, Я.А. Гладова, И.В. Гужова, Б.А. Маргулис
ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург
e-mail: alhassan.bashar.1994@gmail.com

Ключевые слова: рак, HSP70, аутофагия, противоопухолевая терапия

Введение. Лекарственная устойчивость, метастазы и рецидив рака являются основными препятствиями для эффективного лечения рака. Общеизвестно, что рефрактерные раковые клетки усиливают активность клеточных защитных механизмов, включая аутофагию и молекулярные шапероны (HSP70 и HSP90), чтобы противостоять широкому спектру стрессорных и терапевтических воздействий. Это привело к повышенному интересу к применению комбинаторных подходов с ингибиторами этих механизмов для повышения чувствительности резистентных раковых клеток к традиционной терапии. Следовательно, понимание взаимной регуляции механизмов протеостаза может дать представление о перспективных подходах для достижения лучших результатов противораковой терапии.

Цель исследования — изучить взаимодействие между HSP70 и аутофагией в клетках немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), чтобы оценивать новый комбинированный подход с химиотерапией.

Материалы и методы. Для исследования взаимной регуляции HSP70 и аутофагии мы использовали клеточные линии A549 WT и с нокадауном HSP70, модуляторы активности HSP70 и аутофагии и ряд методов, таких как иммуноблоттинг, анализ Cyto-ID и полимеразная цепная реакция в реальном времени. Для оценки эффективности комбинации ингибиторов HSP70 и аутофагии с химиотерапией мы использовали методы МТТ, колониеобразования, а также оценили апоптоз методом проточной цитометрии.

Результаты. Мы показывали, что в ответ на подавление HSP70 с использованием нокадауна или VER-155008 активируется аутофагия в клетках НМРЛ, а в ответ на сверхактивацию HSP70 аутофагия понижается. Кроме того, активация аутофагии снижает уровень HSP70, в то время как ее подавление с помощью SAR405

значительно не влияет на его уровни. Более того, комбинация VER-155008 и SAR405 по отдельности с цисплатином (ЦП) оказывает аддитивный эффект на его эффективность в уничтожении раковых клеток, между тем совместное сочетание VER-155008 и SAR405 синергирует с ЦП и приводит к существенной гибели раковых клеток.

Заключение. Раковые клетки НМРЛ адаптируются к генетическому или химическому подавлению HSP70 посредством усиления активации аутофагии как компенсаторная стратегия, и совместное ингибирование аутофагии с HSP70 значительно стимулирует эффективность препарата 1-й линии ЦП, что может быть многообещающим подходом к лечению НМРЛ.

Работа осуществлялась при поддержке гранта РНФ № 19-74-20161.

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА В ПЕРВИЧНОМ ОПУХОЛЕВОМ УЗЛЕ МЕЛАНОМЫ В16 МЫШЕЙ ПРИ ВВЕДЕНИИ БИС-(3,5-ДИ-ТРЕТ-БУТИЛ-4-ГИДРОКСИФЕНИЛТИОЛАТ)ДИМЕТИЛОЛОВА

М.С. Алхусейн-Кулягинова, М.А. Додохова, О.В. Воронова, М.В. Гулян, Н.Д. Власова, И.М. Котиева

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону
e-mail: rita.kuljaginva@rambler.ru

Ключевые слова: оловоорганические соединения, сосудистые эндотелиальные факторы роста, меланома В16

Введение. Органические производные олова, содержащие фрагмент 2,6-ди-трет-бутилфенола, являются перспективными кандидатами в противоопухолевые средства [1, 2]. Механизм реализации противоопухолевой активности является сложным [3]. Влияние гибридных оловоорганических соединений на процессы неоангиогенеза представляет большой интерес для фундаментальных знаний и может явиться одним из патогенетических звеньев реализации противоопухолевой и антиметастатической активности.

Цель исследования — сравнительная оценка влияния бис-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенилтиолат)диметилолова (Ме-3) в суммарной дозе 375 мг/кг на изменение экспрессии сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) при иммуногистохимическом (ИГХ) исследовании в первичном опухолевом узле при 5- и 10-кратном внутрибрюшинном введении мышам-самкам линии C57BL/6 с перевивной меланомой В16.

Материалы и методы. Исследование было выполнено на мышах-самках линии C57BL/6 ($n = 36$) в возрасте 8 нед массой 21–22 г. Субстанция Ме-3 в суммарной дозе 375 мг/кг вводилась 5- и 10-кратно

внутрибрюшинно через 48 ч после перевивки опухолевых клеток. Контрольной группе 1 % раствор желатина вводился в эквивалентных режимах и объемах. Эвтаназию производили на гильотине на 18-е сутки после перевивки опухолевого материала. Оценку ИГХ-реакции проводили с использованием полуколичественного метода, по интенсивности реакции: 0 баллов — отсутствует, 1 балл — слабая, 2 балла — умеренная, 3 балла — выраженная. Подсчет позитивно окрашенных клеток выполняли в 10 полях зрения при увеличении 200 и рассчитывали среднее арифметическое.

Результаты. Установлено, что при введении носителя отмечается максимально выраженная экспрессия VEGF в опухолевых клетках и эндотелии сосудов первичного узла, введение Ме-3 снижало уровень экспрессии VEGF, наиболее значимо при десятикратном введении — в 73 % полей зрения выявлена слабовыраженная дискретная экспрессия.

Заключение. Выявленные нами особенности ИГХ-распределения экспрессии VEGF в ткани первичного опухолевого узла меланомы В16 позволяют предположить реализацию антинеоангиального механизма действия при длительном введении Ме-3 в метрономном режиме и требуют дальнейшего изучения.

НОВОЕ ПРОИЗВОДНОЕ ПИРИДОКСИНА — АКТИВАТОР NRF2, УСИЛИВАЮЩИЙ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ДОКСОРУБИЦИНА В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ

В.И. Амозова¹, А.А. Балакина^{1,2}, Т.Р. Приходченко¹, Т.С. Ступина¹, Д.В. Мищенко¹⁻³

¹ФГБУН «ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН», Черноголовка;

²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва;

³научно-образовательный центр ФГАОУ ВО «Государственный университет просвещения», Мытищи
e-mail: amozovavi@gmail.com

Ключевые слова: пиридоксин, антиоксидантная система, химиотерапия опухолей, транскрипционный фактор Nrf2

Введение. Транскрипционный фактор Nrf2 — ключевой регулятор антиоксидантной (АО) системы защиты (АОСЗ). Nrf2, реагируя на повышение уровня активных форм кислорода (АФК), усиливает экспрессию генов АО-белков, детоксифицирующих молекулы свободных радикалов. Активность Nrf2 и, как следствие, АОСЗ, в опухолевых клетках может приводить к развитию резистентности по отношению к химиотерапевтическим (ХТ) препаратам, большинство из которых действуют через увеличение количества АФК. В настоящее время известны вещества, обладающие АО-свойствами, способные активировать Nrf2 и АОСЗ,

не снижая при этом цитотоксический эффект ХТ-препарата на опухолевые клетки.

Цель исследования — изучить влияние нового производного пиридоксина на Nrf2-зависимые процессы в опухолевых клетках при действии доксорубина гидрохлорида (ДОКС).

Материалы и методы. В исследовании использовали ди(3-гидрокси-4,5-бис(гидроксиметил)-2-метилпиридиний) (В6НО) и ДОКС. Эксперименты проводили *in vitro* на моделях нормальных клеток FetMSC (фибробластоподобные клетки эмбриона человека) и опухолевых клеток HepG2 (гепатоклеточная карцинома человека). Оценку жизнеспособности клеток проводили с помощью МТТ-теста. Определение внутриклеточного уровня АФК проводили с использованием флуоресцентного красителя DCFH-DA. Активность каспаз оценивали с помощью метода, основанного на связывании фермента с субстратом, меченным флуоресцентной меткой. Для визуализации белков применяли метод иммунофлуоресцентной микроскопии. Влияние исследуемого соединения на экспрессию генов было изучено с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени.

Результаты. В экспериментах *in vitro* было показано, что в результате воздействия В6НО совместно с ДОКС на нормальные клетки происходит активация Nrf2-зависимого АО-пути, сопровождающееся снижением окислительных процессов, индуцированных ДОКС, переходом Nrf2 в ядра клеток и активацией экспрессии его генов-мишеней. Совместное действие В6НО и ДОКС на опухолевые клетки приводит к значительному усилению цитотоксического эффекта, что связано с остановкой клеточного деления в фазе G2/M и увеличением активности проапоптотического фермента каспазы-3. При этом происходит увеличение экспрессии Nrf2 и его транслокация в ядра клеток.

Заключение. Таким образом, установлено, что новое производное пиридоксина В6НО активирует Nrf2-зависимые пути АО-ответа в нормальных клетках, снижая риск развития окислительного стресса, и усиливает цитотоксический эффект при совместном действии с ДОКС на опухолевые клетки, что указывает на перспективность изучения В6НО в качестве АО для снижения побочных эффектов, вызванных ХТ.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России, № АААА-А19-119092390041-5.

ВЛИЯНИЕ EGCG НА СТРУКТУРУ НУКЛЕОСОМ И ХРОМАТОСОМ

Т.В. Андреева¹, А.В. Любителев¹, В.М. Студитский^{1,2},
А.В. Феофанов^{1,3}

¹ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва;

²Fox Chase Cancer Center, Пенсильвания, США;

³ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиком М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН», Москва
e-mail: andreeva.tatyana.2014@post.bio.msu.ru

Ключевые слова: EGCG, нуклеосомы, хроматосомы

Введение. EGCG — природный катехин из зеленого чая, обладающий противораковой активностью. EGCG связывается с ДНК, но его влияние на структуру хроматина не исследовано.

Цель исследования — изучить влияние EGCG на структуру нуклеосом и хроматосом.

Материалы и методы. Исследования проводили методом флуоресцентной микроскопии одиночных частиц на основе FRET, используя нуклеосомы, меченные донор-акцепторной парой флуорофоров в различных участках ДНК. Хроматосомы получали при взаимодействии нуклеосом с линкерным гистоном H1.0 из *Xenopus laevis* или H1.5 человека.

Результаты. Начиная с концентрации 0,4 мкМ взаимодействие EGCG с нуклеосомами вызывает концентрационно-зависимое изменение их структуры, которое завершается при насыщении связывания при 6 мкМ. При субмикромольных концентрациях EGCG вызывает изменение конформации линкерных участков ДНК, увеличивая расстояние между ними, изменяет у части нуклеосом укладку ДНК на октамере гистонов, увеличивая расстояние между супервитками, а у остальных нуклеосом индуцирует отворачивание ДНК от октамера гистонов в области входа ДНК в нуклеосому. При насыщении связывания EGCG отворачивание ДНК от октамера гистонов происходит во всех нуклеосомах, затрагивая от 40 до 60 п. н. Структурные изменения не приводят ни к диссоциации нуклеосомной ДНК, ни к потере коровых гистонов и полностью обратимы при диссоциации комплекса «EGCG — нуклеосома».

В хроматосомах EGCG вызывает концентрационно-зависимое противодействие сближению спиралей линкерной ДНК под влиянием гистонов H1.0 и H1.5 и при высоких концентрациях значительно увеличивает расстояние между линкерами, не вызывая диссоциации гистона H1.

Заключение. Способность EGCG модулировать структуру нуклеосом и хроматосом, увеличивая доступность нуклеосомной ДНК для взаимодействия с ядерными ферментами, может свидетельствовать об эпигенетической активности EGCG и являться частью механизма обнаруженной ранее модуляции экспрессии генов под действием этого катехина.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 21-74-20018.

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПТАЗЫ В КОМБИНАЦИИ С ДЕМЕТИЛИРУЮЩИМИ АГЕНТАМИ НА УРОВЕНЬ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК НА КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ ТНР-1

И.А. Антонова (Чернова)¹, Х.М. Магомедова¹,
О.А. Власова¹, В.А. Нуртдинова¹, А.А. Борунова¹,
Т.Н. Заботина¹, К.И. Кирсанов^{1,2}, М.Г. Якубовская¹

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

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов
им. Патриса Лумумбы», Москва
e-mail: irincher96@yandex.ru

Ключевые слова: ТНР-1, повреждения ДНК, ингибиторы обратной транскриптазы, деметилирующие препараты

Введение. В лечении некоторых групп пациентов с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) применяются децитабин и 5-азациитидин. Их основной механизм действия заключается в ингибировании ДНК-метилтрансферазы, что способствует возобновлению транскрипции генов — супрессоров опухолевого роста, подавленных эпигенетически. Однако, помимо активации определенных генов, деметилирующие препараты могут вызвать нежелательную транскрипцию с некодирующих участков генома, включая ретротранспозоны LINEs. Активная ретротранспозиция LINE1 способствует возникновению повреждений ДНК, геномных перестроек и, как следствие, генетической нестабильности. Для оценки возможности минимизации неблагоприятных последствий был проведен анализ моно- и комбинированной терапии в отношении культивируемых *in vitro* клеток ОМЛ деметилирующих препаратов в сочетании с ингибиторами обратной транскриптазы (ИОТ) вирусов, используемых в антиретровирусной терапии.

Цель исследования — изучить влияние ИОТ на уровень повреждений ДНК, вызванных активной ретротранспозицией LINE1 под действием гипометилирующих агентов децитабина и 5-азациитидина на клетках линии ТНР-1.

Материалы и методы. Клетки ТНР-1 были обработаны деметилирующими препаратами в концентрациях IC₂₀ с временной экспозицией 120 ч и ИОТ в нетоксичных концентрациях. Уровень повреждений ДНК оценивали методом ДНК-комет в соответствии с рекомендациями OECD. Количество фокусов γ-H2AX оценивали методом иммунофлуоресцентного окрашивания клеток и анализе фотографий, полученных на микроскопе Zeiss Axio Observer.

Результаты. Методом ДНК-комет для клеток ТНР1, обработанных деметилирующими агентами 5-азациитидин и децитабин, было показано, что уже при концентрации IC₂₀ происходит существенный рост величины «момента хвоста комет» относительно не-

обработанных клеток: в среднем в 2 раза для децитабина и в 1,7 раза — для 5-азациитидина. Увеличение разрывов ДНК также подтверждено прямым подсчетом количества фокусов γ-H2AX. ИОТ (ламивудин 50 μМ/зидовудин 50 μМ/эфавиренз 50 μМ/ставудин 50 μМ) при монообработке не приводят к значительным повреждениям клеток. Между тем количество поврежденных статистически значимо уменьшалось до контрольных значений в комбинации ИОТ с децитабином (IC₂₀) и 5-азациитидином (IC₂₀).

Заключение. Комбинация ИОТ с деметилирующими препаратами приводит к статистически значимому уменьшению повреждений ДНК на клеточной линии ОМЛ ТНР1 за счет снижения ретротранспозиции LINE1.

Работа поддержана грантом РФФ № 23-25-00-276.

АНТИПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ МИЦЕЛЛЯРНОЙ ФОРМЫ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ, НАГРУЖЕННОЙ ПАКЛИТАКСЕЛОМ, НА CD44-ПОЗИТИВНЫХ КЛЕТКАХ ТРИЖДЫ НЕГАТИВНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

М.М. Антонова¹, Д.В. Сорокин^{2,4}, Д.И. Сальникова²,
Н.С. Осипова¹, Ф.Б. Богданов^{2,3}, Ю.В. Ермоленко¹,
А.М. Щербаков^{2,4}, Т.С. Ковшова¹

¹ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева», Москва;

²НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

³ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва;

⁴ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород

e-mail: antonova.maria.m@mail.ru

Ключевые слова: CD44, рак молочной железы, паклитаксел, гиалуроновая кислота, мицеллярная форма паклитаксела, таксаны

Введение. Терапия онкологических заболеваний с использованием таксанов, таких как паклитаксел (paclitaxel, РТХ) и доцетаксел, осложняется серьезными побочными эффектами, в том числе ввиду содержания в составе лекарственных форм (Taxol[®], Taxotere[®] и др.) токсичных растворителей. Альтернативой могут являться самособирающиеся системы на основе природных полимеров, например гиалуроновой кислоты (ГК). ГК и ее производные являются перспективными носителями для направленной доставки лекарственных веществ ввиду хорошей биосовместимости и способности к нацеливанию на специфические рецепторы на поверхности опухолевых клеток (например, CD44). Включение РТХ в полимерные мицеллы позволит избежать использования токсичных растворителей при парентеральном введении, а также улучшить доставку в опухолевые клетки, гиперэкспрессирующие рецепторы CD44.

Цель исследования — разработка мицеллярной формы паклитаксела (РТХ) на основе гидрофобизированной ГК (ГК-С18) и оценка ее цитотоксической активности на линиях клеток трижды негативного рака молочной железы (ТНРМЖ).

Материалы и методы. Включение РТХ в гидрофобное ядро мицелл ГК-С18 проводили путем его растворения в этаноле и последующей ультразвуковой гомогенизацией с 1 % водным раствором ГК-С18. Растворитель удаляли диализом против цитратного буфера (0,1М, рН = 5). Наносuspензии фильтровали (90–150 мкм) и лиофилизировали. Размер частиц и ζ-потенциал поверхности измеряли методом динамического лазерного светорассеяния; содержание РТХ (эффективность загрузки) оценивали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Цитотоксичность полученной мицеллярной формы в сравнении с РТХ в свободном виде на линиях клеток РМЖ исследовали методом МТТ после 72 ч инкубации.

Результаты. Были получены мицеллярные формы со средним размером 340 нм, ζ-потенциалом поверхности –37 мВ и эффективностью загрузки РТХ ~81 %. Мезенхимальные характеристики были более выражены в клетках ТНРМЖ (линии 4Т1 и MDA-MB-231) при сравнении с клетками гормонозависимого РМЖ (линия MCF7). Рост экспрессии мезенхимальных маркеров (виментин, ZEB1, N-кадгерин), а также снижение экспрессии эпителиальных и гормональных маркеров (Е-кадгерин, рецептор эстрогенов α, GREB1, рецепторы прогестерона А и В) были ассоциированы с повышенной экспрессией CD44. Мицеллы на основе ГК-С18, содержащие РТХ, не уступали по антипролиферативным характеристикам препарату сравнения (РТХ) и вызывали снижение выживаемости CD44-позитивных клеток ТНРМЖ в наномолярном диапазоне концентраций на 50 %.

Заключение. Разработана мицеллярная форма РТХ на основе ГК-С18, демонстрирующая значительные антипролиферативные эффекты в отношении CD44-позитивных ТНРМЖ. Полученные данные свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения механизма интернализации мицелл в клетки данного молекулярного подтипа РМЖ и поиска подходов для усиления CD44-зависимого транспорта лекарственных веществ.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках государственного задания (проект FSSM-2022-0003).

ТРАНСКРИПТОМ МЕТАСТАТИЧЕСКОГО КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА: СВЯЗЬ С ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ

Н.Н. Бабышкина^{1,2}, Т.А. Дронова¹, А.Ю. Добродеев¹,
Д.Н. Костромицкий¹, Н.В. Чердынцева¹

¹НИИ онкологии — филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск;

²ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск
e-mail: nbabyshkina@mail.ru

Ключевые слова: метастатический колоректальный рак, предоперационная химиотерапия, таргетная терапия, FOLFOXIRI, транскриптом

Введение. Применение стандартных схем химиотерапии (FOLFOX, FOLFIRI, XELOX) в сочетании с таргетными препаратами у больных метастатическим колоректальным раком не всегда сопряжено с ожидаемым ответом. Поиск потенциальных биомаркеров для предсказания эффективности противоопухолевого лечения и ее индивидуализации остается актуальным направлением исследования.

Цель исследования — провести анализ транскриптомного профиля опухолей толстой кишки (ТК) и метастатических узлов в печени во взаимосвязи с эффективностью комбинированной терапии (FOLFOXIRI плюс таргетные препараты).

Материалы и методы. В исследование включены 23 пациента с колоректальным раком с метастазами в печень, которые получали предоперационную химиотерапию FOLFOXIRI в сочетании с бевацизумабом или цетуксимабом. Для оценки эффективности терапии использована шкала RECIST v1.1 (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors — критерии оценки ответа солидных опухолей). Полнотранскриптомное секвенирование проведено на платформе NextSeq 500 (Illumina, США). Данные о дифференциальной экспрессии генов между исследуемыми группами анализировали с использованием программного пакета DESeq2 в среде R.

Результаты. При применении FOLFOXIRI в комбинации с таргетными препаратами у всех пациентов исследуемой группы отмечен частичный ответ первичной опухоли и метастатических узлов в печени. Показано, что транскриптом первичных опухолей ТК ассоциирован с активацией процессов эмбрио- и онкогенеза, регуляции гомеостаза, а также процессов дифференцировки, миграции и организации цитоскелета. В метастатических узлах в печени до лечения гиперэкспрессированы транскрипты, связанные с процессами транспорта стероидов, липидов и их метаболизма, регуляцией воспалительных процессов и коагуляции, биотрансформации ксенобиотиков, а также неспецифического иммунитета и метаболизма витамина D. После проведения комбинированной терапии обнаружены существенные различия по спектру

дифференциально экспрессирующихся генов, наиболее выраженные между образцами опухолей ТК.

Заключение. Выявлена дискордантность транскрипционного профиля первичной опухоли ТК и метастатических очагов в печени, который модулируется под влиянием предоперационной терапии FOLFOXIRI в комбинации с таргетными препаратами.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 22-15-00212.

РОЛЬ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА NRF2 В ЦИТОТОКСИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ НИТРОЗИЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ЖЕЛЕЗА С N-ЭТИЛТИОМОЧЕВИНОЙ НА КЛЕТКИ ГЛИОБЛАСТОМ

А.А. Балакина^{1,2}, В.И. Амозова¹, Т.С. Ступина¹,
Н.А. Санина¹⁻³

¹ФГБУН «ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН», Черноголовка;

²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва;

³Научно-образовательный центр Государственного университета просвещения в г. Черноголовка, Мытищи
e-mail: balakina@icp.ac.ru

Ключевые слова: Nrf2, комплекс ЕТМ, глиобластома

Введение. Глиобластома (ГБ) представляет собой основную форму опухолей головного мозга и один из самых агрессивных типов злокачественных новообразований в целом. ГБМ чрезвычайно устойчивы к большинству видов лечения из-за своей гетерогенной природы, а поиски более эффективной терапии данного типа опухолей остаются одной из главных задач в онкологических исследованиях. Клетки ГБ обладают высоким уровнем пролиферации и скоростью метаболизма, что приводит к увеличению базового уровня активных форм кислорода (АФК) и определяет важную роль метаболической адаптации данного типа клеток в условиях окислительного стресса. Транскрипционный фактор Nrf2 является основным регулятором при окислительном стрессе и представляет собой перспективную мишень для влияния на редокс-гомеостаз клеток ГБ, поскольку значительная перестройка антиоксидантной системы при противоопухолевой терапии может способствовать как выживаемости клеток и развитию резистентности, так и их гибели различными путями. Нитрозильный комплекс железа с N-этилтиомочевинной (ЕТМ) обладает уникальной избирательностью действия по отношению к клеткам ГБ *in vitro*, а его цитотоксическое действие сопровождается существенным увеличением внутриклеточного образования свободнорадикальных молекул.

Цель исследования — изучить влияние комплекса ЕТМ на Nrf2-зависимые процессы в клетках ГБ *in vitro*.

Материалы и методы. Эксперименты проводили на линиях A-172 (ГБ человека) и U-251 MG (глиоблас-

тома-астроцитомы человека). В работе использовали иммунофлуоресцентную микроскопию, иммуноблоттинг, полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени, проточную цитофлуориметрию.

Результаты. Комплекс ЕТМ значительно повышает внутриклеточное содержание АФК и монооксида азота в клетках ГБ, а также вызывает активацию каспазозависимого апоптоза, что сопровождается существенным изменением функционирования защитных систем клеток. Так, в клетках происходит ядерная транслокация Nrf2 и значительное увеличение экспрессии его основной мишени — фермента гемоксигеназы 1 (HO-1). В то же время происходит подавление провоспалительных NF-κB-зависимых путей.

Заключение. Таким образом, установлено, что нитрозильный комплекс железа ЕТМ способен вызывать значительное изменение редокс-гомеостаза в клетках ГБ за счет активации пути Nrf2/HO1, что подавляет провоспалительные процессы и сопровождается активацией апоптотической клеточной гибели. Полученные данные говорят о важной роли Nrf2-зависимых процессов в выживаемости клеток ГБ в условиях окислительного стресса, а воздействие на транскрипционный фактор Nrf2 может стать важным подходом для повышения эффективности различных видов терапии опухолей головного мозга.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России № АААА-А19-119092390041-5, АААА-А19-119071890015-6.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИСКУССТВЕННО СФОРМИРОВАННОЙ БЕЛКОВОЙ КОРОНЫ ИЗ ДЕНАТУРИРОВАННОГО БЫЧЬЕГО АЛЬБУМИНА И БЫЧЬЕГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА НА ПОВЕРХНОСТИ АПКОНВЕРСИОННЫХ НАНОЧАСТИЦ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФАГОЦИТОЗА ПЕРИТОНЕАЛЬНЫМИ МАКРОФАГАМИ

Д.К. Баушева, К.А. Тулякова, Н.Ю. Шилягина,
А.В. Звягин, Е.Л. Гурьев

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород
e-mail: bausheva16@mail.ru

Ключевые слова: антистоксовые нанофосфоры, белковая корона, перитонеальные макрофаги

Введение. На данный момент тераностика является активно развивающимся направлением биомедицины. Особое внимание в тераностике уделяется использованию нанофосфоров (НАФ) — неорганических фотолюминесцентных наночастиц, способных к апконверсии света. Исключительная устойчивость к фото- и химической деградации, возбуждение длинами волн, попадающими в «окно прозрачности» биоткани,

позволяет использовать НАФ как платформу для создания мультифункциональных таргетных агентов, сочетающих диагностические и терапевтические свойства.

Цель исследования — изучить влияние образующейся белковой короны из бычьего сывороточного альбумина (БСА) и термически денатурированного БСА (дБСА) на поверхности антистоксовых частиц на специфичность фагоцитоза перитонеальными макрофагами.

Материалы и методы. Поверхность НАФ, покрытых остатками олеиновой кислоты, была модифицирована методом обмена лигандов с помощью тетрафторбората нитрозония (NOBF_4) для достижения гидрофильности и биосовместимости наночастиц. Для искусственно образующейся белковой короны на поверхности НАФ использовались белки БСА и дБСА. При помощи лиофилизации суспензии НАФ в растворах БСА и дБСА были получены наноконструкции НАФ-БСА и НАФ-дБСА с гидродинамическим диаметром ~105 и ~139 нм соответственно.

Результаты. Выделенные клетки из перитонеального транссудата мышей линий BALB/C высевали в лунки 96-луночного конфокального планшета. После прикрепления клеток в лунки добавляли суспензию наноконструкций НАФ-БСА или НАФ-дБСА инкубировали в течение 12 ч. Препараты исследовали методом конфокальной лазерной флуоресцентной микроскопии. Полученные данные показали большее накопление НАФ-дБСА в перитонеальных макрофагах по сравнению с НАФ-БСА.

Заключение. В результате проведенных исследований полученные данные показывают преимущество перитонеальных инъекций перед внутривенными, что позволяет предположить опосредованный транспорт наночастиц при помощи перитонеальных макрофагов в перитонеальные опухолевые очаги. В настоящее время проводятся дальнейшие исследования влияния свойств оболочки наночастиц на эффективность их поглощения перитонеальными макрофагами и доставки в перитонеальные опухолевые очаги.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы стратегического академического лидерства «Приоритет-2030» ННГУ (проект № Н-417-99_2022-2023).

ВЛИЯНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ГИДРОФИЛЬНЫХ ХАЛЬКОГЕНСОДЕРЖАЩИХ ПРОИЗВОДНЫХ АЛКИЛИРОВАННЫХ ФЕНОЛОВ НА ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ РЯДА ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЦИТОСТАТИКОВ *IN VITRO*

Т.Н. Богатыренко¹, Н.В. Кандалищева², Т.Е. Сашенкова¹,
У.Ю. Аллаярва¹, Е.Н. Климанова¹, Д.В. Мищенко¹

¹ФГБУН «ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН», Черноголовка;

²ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный педагогический университет», Новосибирск
e-mail: btm@ich.ac.ru

Ключевые слова: циклофосфан, цисплатин, доксорубин, цитостатики, противоопухолевая терапия

Введение. Новыми подходами к противоопухолевой терапии могут служить исследования влияния на опухолевый рост редокс-активных соединений. Модулирующее действие на клеточный метаболизм оказывают различные редокс-активные соединения, в частности антиоксиданты (АО) и оксид азота (NO). В организме NO вырабатывается из L-аргинина под действием 3 различных изоформ NO-синтаз, активно участвует в превращении нитрит-ионов в NO-дезоксигемоглобин, к увеличению концентрации NO в организме может приводить и аскорбиновая кислота (АК).

Цель исследования — изучить влияние аскорбиновой кислоты с гидрофильными халькогенсодержащими производными алкилированных фенолов (серо-ТС-13 и селен- — ПЭК-содержащими) на изменение активности ряда противоопухолевых цитостатиков: циклофосфана (ЦФ), цисплатина (ЦП), доксорубина (ДОКС).

Материал и методы. Противоопухолевую активность изучали на лимфолейкозе P388 мышей линии BDF₁. Критерием эффективности лечения служили выживаемость и индекс увеличения средней продолжительности жизни животных — носителей опухоли (ILS, %).

Результаты. Показано, что АК увеличивает активность ЦФ на 98 % по сравнению с монотерапией и приводит к 50 % выживанию животных. ЦП уменьшается на 18 %. На активность ДОКС практически не влияет. Добавление к этим композициям халькогенсодержащих производных алкилированных фенолов (ТС-13, ПЭК) по-разному модулирует активность цитостатиков. ТС-13 уменьшает активность ЦФ на 22 %, а ПЭК — увеличивает на 31 %. Добавление к ЦП с АК АО ТС-13 и селенсодержащего ПЭК увеличивает активность ЦП на 58 и 51 % соответственно, при этом приводит к 33 % показателю выживания животных. Добавление к ДОКС с АК АО ТС-13 уменьшает активность ДОКС на 10 %, а ПЭК — увеличивает на 52 % по сравнению с монотерапией.

Работа выполнена в рамках госзадания № АААА-А19-119071890015-6.

РАЗРАБОТКА ПЕРВОЙ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ БИМЕДИЦИНСКОГО КЛЕТОЧНОГО ПРОДУКТА НА ОСНОВЕ ОПУХОЛЬ-ИНФИЛЬТРИРУЮЩИХ ЛИМФОЦИТОВ ДЛЯ ТЕРАПИИ ПАЦИЕНТОВ С РАСПРОСТРАНЕННОЙ МЕЛАНОМОЙ

А.А. Богданов, А.А. Корнев, А.О. Данилов, Ан.А. Богданов,
В.В. Егоренков, Н.М. Волков, В.М. Моисеенко

ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический
научно-практический центр специализированных видов
медицинской помощи (онкологический) им. Н.П. Напалкова»,
Санкт-Петербург
e-mail: a.bogdanov@oncocentre.ru

Ключевые слова: меланома, адоптивная клеточная терапия, опухоль-инфильтрирующие лимфоциты

Введение. Адоптивная клеточная терапия рака опухоль-инфильтрирующими лимфоцитами (ОИЛ) обладает потенциалом эффективности даже в случае резистентных опухолей, и, например, при меланоме частота объективных ответов составляет 40–70 %, при этом для рефрактерной меланомы у 10–15 % пациентов наблюдается устойчивый полный регресс.

Цель исследования – в разработке первой отечественной лабораторной технологии получения биомедицинского клеточного продукта на основе ОИЛ (БМКП ОИЛ) для пациентов с распространенной меланомой.

Материалы и методы. Для получаемого операционного материала были подобраны оптимальные условия, приводящие к элиминации клеток опухоли и стабильному получению жизнеспособных ОИЛ в количестве не менее 10^5 клеток. При активации ОИЛ в качестве фидеров использовали γ -облученные дозой 50 Гр клетки периферической крови здоровых добровольцев, далее добавляли анти-CD3 (ОКТ3) антитело и интерлейкин 2. Быструю амплификацию ОИЛ проводили в стандартных культуральных флаконах до достижения клинически значимых количеств жизнеспособных клеток $\geq 10^9$. Далее определяли уровень продукции ОИЛ интерферона гамма (IFN- γ) при их сокультивации с клетками опухоли. После этого проводили процедуру очистки ОИЛ от элементов среды культивирования, перемещали ОИЛ в пакет для инфузий в растворе Рингера – получали БМКП ОИЛ. Проводили подсчет и анализ полученных ОИЛ на жизнеспособность и распределение по кластерам дифференцировки.

Результаты. Для 5 пациентов с распространенной меланомой был выполнен полный цикл получения БМКП ОИЛ, занимавший с момента взятия операционного материала 45–54 сут. Активность амплифицированных ОИЛ в продукции IFN- γ (110–985 пг/мл) при сокультивации с опухолевыми клетками была более чем в 2 раза выше по сравнению с интактными ОИЛ. Количество ОИЛ в БМКП составило $(1–8) \times 10^9$ клеток

при жизнеспособности более 98 %. Распределение по кластерам дифференцировки в БМКП ОИЛ составило CD3⁺ – 85–98 %, среди них CD8⁺ – 32–85 %, CD4⁺ – 2–63 %, CD25⁺FoxP3⁺ (T-регуляторные клетки) – не более 0,2 %.

Заключение. Разработана первая российская лабораторная технология получения БМКП ОИЛ для пациентов с распространенной меланомой.

Работа выполнена в рамках государственного задания Комитета по здравоохранению Санкт-Петербурга для ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический) им. Н.П. Напалкова».

СОЗДАНИЕ ПАНЕЛИ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ КЛЕТОК ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ И МОРФОЛОГИЮ

М.А. Богомолов, Т.Д. Лебедев

ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт
(Национальный исследовательский университет)»,

Долгопрудный;

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

e-mail: bogomolov.ma@phystech.edu

Ключевые слова: клеточный цикл, флуоресцентная микроскопия, противоопухолевые препараты, RIP-FUCCI

Введение. Многие исследования новых или уже используемых в терапии противоопухолевых препаратов оценивают влияние этих препаратов на клеточный цикл некоторых модельных клеточных линий, но в таких работах используются различные методы исследования клеточного цикла и клеточных линий, принадлежащих к различным тканям. Исследования, в котором бы тестировалось влияние широкого спектра препаратов на клеточный цикл одновременно, ранее не проводилось.

Цель исследования – создание удобного инструмента для исследования механизмов действия противоопухолевых препаратов в различных фазах клеточного цикла. В качестве такого инструмента выступает панель клеточных линий, в которые при помощи лентивирусной трансдукции встроен репортер RIP-FUCCI, что позволяет отслеживать динамику клеточного цикла с использованием автоматизированной микроскопии.

Материалы и методы. Лентивирусная трансдукция, проточная цитометрия, синхронизация клеточного цикла, различные методы окрашивания клеточного ядра, автоматическая флуоресцентная микроскопия.

Результаты. На базе 8 клеточных линий, отобранных на основании тканевой принадлежности и мутационного статуса по генам, которые ассоциированы

с клеточным циклом, при помощи лентивирусной трансдукции были получены флуоресцентные клеточные линии, экспрессирующие репортер PIP-FUCCI. Для подтверждения работоспособности репортера был использован метод проточной цитофлуориметрии с окрашиванием клеточного ядра красителем SYTOX blue. На полученной панели протестированы различные способы синхронизации клеточного цикла и оценена эффективность синхронизации для каждого способа. Отдельно проведено сравнение работы репортера и окрашивания клеточного ядра EdU для определения фазы клеточного цикла: данные репортера хорошо соотносятся с данными окрашивания. На полученной панели флуоресцентных клеток было протестировано влияние 12 противоопухолевых препаратов на клеточный цикл и морфологию клеток.

Заключение. Создана панель флуоресцентных клеток, которую можно использовать для исследования клеточного цикла. Полученные клетки стабильно экспрессируют репортер, их скорость роста и морфология не отличаются от таковых у клеточных линий без репортера. При помощи цитометрии и синхронизации клеточного цикла показано, что репортер PIP-FUCCI позволяет отслеживать количество клеток в разных фазах клеточного цикла, а также динамику этого количества во время эксперимента на живых клетках без необходимости фиксации клеток или других воздействий. Для некоторых клеточных линий не удалось добиться заметного уровня синхронизации некоторыми способами. Предполагается, что это связано с индивидуальными особенностями клеточного цикла таких линий. Дополнительно были выбраны наиболее эффективные способы синхронизации клеточного цикла для дальнейших экспериментов: для остановки в G1-фазе — палбоциклиб; для остановки в S-фазе — гидроксимочевина; для остановки в G2/M-фазах — колхицин. На полученных линиях протестированы противораковые препараты с различными механизмами действия, показано, что таким образом можно получать данные о динамике клеточного цикла, влиянии на него препаратов, выживаемости клеток и морфологии клеток и клеточных ядер.

КОНТРОЛЬ ERICH3 КЛЕТОЧНОГО РОСТА И ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, СВЯЗАННЫХ С РАЗВИТИЕМ РАКА И ДИАБЕТА

Э.А. Богомолова, Д.Э. Демин

ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (Национальный исследовательский университет)», Долгопрудный;

ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН», Москва
e-mail: gurova.ea@phystech.edu

Ключевые слова: первичная ресничка, ERICH3, колоректальный рак, диабет

Введение. Первичная ресничка — один из наименее изученных компонентов поверхности клеток млекопитающих. Эта органелла имеет функцию клеточной «антенны», которая способна использовать различные клеточные рецепторы и сигнальные комплексы для реакции на условия внешней среды. Показана роль первичной реснички в регулировании таких процессов, как клеточный цикл, апоптоз и чувствительность к инсулину. ERICH3 — белок, участвующий в формировании и функционировании первичной реснички. Этот белок определяет длину реснички и влияет на сигнальные пути, связанные с ней. Повышение уровня ERICH3 связано с ухудшенным прогнозом при колоректальном раке.

Цель исследования — изучить роль ERICH3 в клеточных моделях онкогенеза и диабета.

Материалы и методы. Нокдаун ERICH3 произведен с помощью липофекции малых интерферирующих РНК. Для активации экспрессии ERICH3 применены сывороточное голодание и обработка антипсихотиком тиоридазином, активирующим процессы аутофагии через дофаминовый D2-рецептор (DRD2) и активирующим первичную ресничку. Скорость роста измерялась прибором по наблюдению в реальном времени xCELLigence DP в течение 96 ч. Возможные транскрипционные мишени ERICH3 выявлены с помощью корреляционного анализа.

Результаты. Как добавление тиоридазина, так и сывороточное голодание привели к повышению уровня ERICH3. Введение малых интерферирующих РНК вызвало значительное снижение экспрессии ERICH3 во всех исследованных клеточных линиях. Полученный нокдаун привел к замедлению клеточного роста. Для выявления механизмов влияния ERICH3 мы измерили изменение экспрессии потенциальных мишеней ERICH3. В результате мы обнаружили синхронное изменение уровня ERICH3 и генов, регулирующих сигнальные пути, связанные с клеточным ростом и метаболизмом глюкозы.

Заключение. На основании полученных данных мы предполагаем, что белок ERICH3 играет роль в передаче сигналов через первичную ресничку и может быть связан с развитием различных заболеваний, таких как колоректальный рак и диабет. В дальнейшем мы планируем изучение 2 основных изоформ ERICH3: 201 и 202, которые различаются наличием или отсутствием области, несущей сайт D-box.

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ АБЕРРАЦИЙ ЧИСЛА КОПИЙ ДНК ГЕНОВ ABC-ТРАНСПОРТЕРОВ ПРИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЛЕГКОГО

Д.Ж. Булатова^{1,2}, Е.О. Родионов¹, М.К. Ибрагимова^{1,2}, М.М. Цыганов^{1,2}

¹НИИ онкологии — филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск;

²ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск
e-mail: danna.bulatova@bk.ru

Ключевые слова: aberrации числа копий ДНК, семейство ABC-транспортеров, немелкоклеточный рак легкого

Введение. В настоящее время все больше исследователей привлекает возможность оценки резистентности опухоли легкого к химиотерапевтическим (ХТ) препаратам для дальнейшей возможности определения наиболее эффективной схемы ХТ. Одним из таких подходов является оценка экспрессии генов химиорезистентности, и в частности генов семейства ABC-транспортеров. Несмотря на то что уже сейчас показано, что экспрессия данных генов коррелирует как с эффективностью ХТ, так и с отдаленными результатами лечения, оценка паттерна экспрессии данных генов является вариабельной величиной и может зависеть от многих факторов. Кроме того, мы предполагаем, что другие aberrантные состояния генов или локусов хромосом, где локализованы данные гены, могут влиять на эффект лечения и прогноз заболевания.

Цель исследования — оценка прогностического потенциала aberrаций числа копий ДНК генов семейства ABC-транспортеров.

Материалы и методы. В исследовании был использован операционный материал, полученный от 104 пациентов с диагнозом «немелкоклеточный рак легкого ПВ–IIIА-стадии». Лечение включало операцию и 3 курса адьювантной ХТ (АХТ) «платиновыми дуплетами». Из образцов выделяли ДНК с последующим проведением микроматричного исследования всех образцов опухоли на микрочипах CytoScan™ HD Array для оценки наличия хромосомных aberrаций. Выделяли также РНК с последующей постановкой количественной полимеразной цепной реакции для оценки экспрессии некоторых генов ABC-транспортеров.

Результаты. Методом Каплана–Майера установлено, что наибольшие показатели 5-летней безметастатической выживаемости (более 85 %) отмечаются у пациентов с низкой экспрессией генов *ABCB1* и *ABCG2*, *log-rank* тест $p = 0,0007$ и $p = 0,002$ соответственно. Частота хромосомных aberrаций в исследуемых генах варьировала в пределах 0–9,6 % для делеций и 1–29,8 % для амплификаций. Наибольшая частота делеций была зафиксирована для генов *ABCC5*, *ABCF3*, *ABCB10*; амплификаций — для генов *ABCG4*, *ABCG2*, *ABCA2*, *ABCA7*, *ABCA4*, *ABCD3*. Оценка показателей безметастатической выживаемости в зависимости от наличия aberrаций числа копий ДНК исследуемых генов показала, что наличие амплификации в генах *ABCC5*, *ABCC6*, *ABCC10* связано с низкими показателями выживаемости (92 %) по сравнению с группой пациентов с нормальной копийностью данных генов (73 %). Равно как и амплификация *ABCG1* определяла низкую выживаемость пациентов ($p = 0,005$). Установлена связь делеции гена *ABCC2* с высокой выживаемостью ($p = 0,04$).

Заключение. Таким образом, в результате проведенного исследования показано, что aberrантные состояния некоторых генов ABC-транспортеров являются потенциальными прогностическими маркерами безметастатической выживаемости.

Работа поддержана грантом РФФ № 22-15-00169.

ОКИСЛИТЕЛЬНО-МОДИФИЦИРОВАННЫЕ БЕЛКИ ДО ИНИЦИИИ И НА ФОНЕ ХИМИОТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

А.М. Быканова^{1,2}, Д.А. Березникова¹, Ю.В. Фурман¹,
В.В. Хвостовой^{1,2}, И.В. Станоевич^{1,3}

¹ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», Курск;

²ОБУЗ «Курский онкологический научно-клинический центр им. Г.Е. Островерхова», Курск;

³ФГБУ «Научный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, Москва
e-mail: kolesnicova90@mail.ru

Ключевые слова: химиотерапия, окислительно-модифицированные белки, колоректальный рак

Введение. Анализ статистических данных последних лет свидетельствует о неуклонном росте заболеваемости колоректальным раком (КРР) во всем мире. В последние годы химиотерапия (ХТ) КРР сделала огромный шаг вперед благодаря созданию таких препаратов, как оксалиплатин, иринотекан, капецитабин и т.д. С началом применения этих препаратов в клинической практике медиана продолжительности жизни больных диссеминированным КРР достигла 24 мес. КРР относится к медленно прогрессирующим опухолям, его появление и рост в организме человека сопровождается снижением показателей антиокислительной активности и появлением окислительного стресса. Общим механизмом, интегрирующим эти процессы, является процесс окислительной модификации белков, считающийся наиболее ранним маркером окислительного стресса.

Цель исследования — определить содержание окислительно-модифицированных белков до инициации и после 4 курсов полихимиотерапии (ПХТ) у пациентов с КРР.

Материалы и методы. Объектом исследования служила сыворотка крови 60 пациентов с диагнозом КРР, до инициации ХТ и после 4 курсов ПХТ разных возрастных групп как у мужчин, так и у женщин в условиях круглосуточного стационара Курского онкологического научно-клинического центра им. Г.Е. Островерхова. В исследование включены пациенты с II–IV стадиями опухолевого процесса, с гистологическим вариантом — аденокарциномой low-grade и high-grade. Количество окислительно модифицированных белков определяли при помощи спектрофотометра в диапазоне длин волн 230–530 нм. Комплексная оценка содержания

окислительно модифицированных белков в биологических жидкостях при проведении спектрофотометрического анализа проводилась с помощью способа расчета с использованием метода численного интегрирования – формулы Симпсона.

Результаты. В результате проведенных исследований в сыворотке крови больных КРП после 4 курсов ПХТ выявлено стойкое повышение интенсивности процессов окислительного модифицирования белков по сравнению с составом сыворотки крови у пациентов до инициации лечения. Преобладание кетонпроизводных динитрофенилгидразонов свидетельствует о том, что в организме больных активно протекают процессы агрегации белков. Данные процессы формируют поперечные сшивки, нарушающие трехмерную структуру белков, способствуют разворачиванию глобулы и увеличению гидрофильности молекулы. Такие конформационные изменения в конечном итоге могут приводить к снижению или полной потере функциональной активности белковых молекул.

Заключение. Таким образом, результаты исследований подтверждают то, что на фоне проведения ПХТ наблюдается рост процессов окислительной модификации белков. Контроль процессов окислительной модификации белков может быть прогностически важным для контроля развития токсических осложнений противоопухолевой лекарственной терапии.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МУТАЦИОННОГО ПРОФИЛЯ ПЕРВИЧНЫХ И РЕЦИДИВНЫХ ГЛИОМ С ЦЕЛЬЮ ПОИСКА МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ПРОГРЕССИИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

В.О. Варачев¹, О.Ю. Сусова², А.А. Митрофанов²,
Г.С. Краснов¹, Ю.И. Амму³, С.Д. Бежанова²,
Д.Р. Насхлеташвили², Н.В. Севян^{2,4}, Е.В. Прозоренко^{2,4},
А.Х. Бекашев², Т.В. Наседкина¹

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

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

³ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва

⁴ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва
e-mail: susovaolga@gmail.com

Ключевые слова: глиома, глиобластома, рецидив, секвенирование нового поколения, мутации, CNV

Введение. Глиомы представляют собой гетерогенную группу опухолей, наиболее агрессивным подтипом является глиобластома (ГБ), которая составляет до 60 % первичных опухолей головного мозга у взрослых. Существующая тактика лечения, основанная на хирургическом удалении опухоли и последующей химио- и лучевой терапии, сохраняет высокий риск развития рецидива. Согласно классификации Всемир-

ной организации здравоохранения 2021 г., молекулярно-генетические характеристики опухоли являются основой в диагностике глиом, однако на практике редко учитываются в протоколах лечения. Поиск молекулярных изменений, ассоциированных с развитием опухоли, может быть перспективным для определения прогноза и выбора таргетной терапии.

Цель работы – исследовать генетические нарушения при первичных и рецидивных глиомах и оценить их возможное применение в диагностике и лечении.

Материалы и методы. В исследование включены 75 пациентов с опухолями мозга (глиома, ГБ) в возрасте от 34 до 78 лет (средний возраст 56 лет), 46 мужчин и 29 женщин. Методом секвенирования нового поколения исследовали кодирующие участки 812 генов, ассоциированных с развитием рака. Для определения копийности участков хромосом использовали сравнительный анализ (норма-опухоль) частот β -аллелей (beta allele frequency, BAF).

Результаты. В 5 образцах обнаружена мутация R132H в гене *IDH1* (глиома IDH-mutant), из них 4 образца представлены рецидивом опухоли, среднее время ремиссии – 7,1 года. В 3 образцах выявлена делеция 1p/19q, что является молекулярным маркером олигодендроглиомы, в 2 образцах – мутации в гене *TP53* отдельно или в сочетании с мутацией гена *ATRX* (астроцитомы, G3). У 70 пациентов диагностирована глиома IDH-wildtype (ГБ): первичная опухоль ($n = 51$) или рецидив опухоли ($n = 19$), средняя продолжительность ремиссии – 15,4 мес. В образцах первичной ГБ по сравнению с рецидивной ГБ чаще обнаруживали мутации промотора гена *TERT* (75 % vs 47 %) и мутации в гене *EGFR* (8 % vs 0 %). При рецидиве ГБ чаще встречались мутации генов *PTEN* (47 % vs 35 %) и *TP53* (32 % vs 26 %), различия статистически незначимы. Изменения копийности участков хромосом 13, 17 и 22 чаще встречались в образцах рецидивной ГБ по сравнению с образцами первичной ГБ.

Заключение. Секвенирование образцов ГБ выявило различия в частоте встречаемости генетических маркеров между первичной и рецидивной опухолями. Детальный анализ клинически значимых мутаций и структурных перестроек на разных этапах заболевания может иметь значение при поиске новых молекулярных мишеней для терапии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 22-15-00304).

ОНКОЛИТИЧЕСКИЙ ВИРУС VV-GMCSF-LACT КАК СРЕДСТВО ТЕРАПИИ ГЛИОМ ЧЕЛОВЕКА

Н.С. Васильева^{1,3}, А.Б. Агеенко¹, Г.В. Кочнева²,
В.А. Рихтер¹, Е.В. Кулигина^{1,3}

¹ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск;

²ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Новосибирск;

³ООО «Онкостар», Новосибирск

e-mail: nataly_vas@bk.ru

Ключевые слова: виротерапия, глиобластома, VV-GMCSF-Lact

Введение. Виротерапия опухолей, в том числе глиом, является одним из наиболее перспективных онкотерапевтических подходов. Ранее был разработан рекомбинантный вирус осповакцины VV-GMCSF-Lact, который на данный момент находится на I фазе клинических испытаний в отношении рака молочной железы и является перспективным препаратом для терапии глиом.

Цель исследования заключалась в оценке противоопухолевого потенциала VV-GMCSF-Lact в отношении глиом различной степени злокачественности на моделях *in vitro* и *in vivo*. Для выявления возможных механизмов, опосредующих эффективность действия VV-GMCSF-Lact, проведено исследование белков — участников сигнальных путей, в клетках глиом под воздействием вируса.

Материалы и методы. Цитотоксическая активность VV-GMCSF-Lact *in vitro* исследована на клетках иммортализованных и персонализированных культур глиом человека различной степени злокачественности с помощью коммерческого набора Deep Blue Cell Viability Kit. Противоопухолевая эффективность *in vivo* оценена на модели ксенографтов глиом человека и на сингенной модели глиомы С6 крысы. Кроме того, в клетках глиом человека с различной чувствительностью к VV-GMCSF-Lact с помощью вестерн-блота исследованы уровни белков-участников сигнальных путей, опосредующих действие вируса.

Результаты. Согласно полученным данным, онколитический вирус VV-GMCSF-Lact обладает высокой онколитической активностью в отношении клеток иммортализованных и персонализированных культур глиом человека. Обнаружено также, что вирус эффективен в отношении ксенографтов глиобластомы человека. Кроме того, при внутривенном введении VV-GMCSF-Lact иммунокомпетентным крысам с ортотопически трансплантированными опухолями С6 установлено достоверное уменьшение объемов опухолей по сравнению с контрольной группой.

При исследовании сигнальных путей, способных определять эффективность действия VV-GMCSF-Lact на клетки глиом, установлена вовлеченность в формирование устойчивости к вирусу белков — ингибиторов апоптоза клетки-хозяина.

Заключение. Таким образом, показана высокая противоопухолевая эффективность VV-GMCSF-Lact в отношении глиом. Предложен механизм, обуславливающий устойчивость клеток глиом к действию VV-GMCSF-Lact. Полученные данные позволят разработать наиболее эффективную схему терапии с помощью онколитического вируса VV-GMCSF-Lact.

Исследование проведено при поддержке гранта РФФ № 21-14-0095.

ПРИМЕНЕНИЕ НАТРИЕВОЙ СОЛИ МАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ УВЕЛИЧИВАЕТ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КЛЕТОК СТ26 С РАДИОРЕЗИСТЕНТНЫМ ФЕНОТИПОМ К ДЕЙСТВИЮ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Н.А. Верлов¹, В.С. Бурдаков¹, И.А. Кулаков¹, А.А. Богданов²

¹ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики

им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский

Институт», Гатчина;

²ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический) им. Н.П. Напалкова», Санкт-Петербург

e-mail: verlov_na@pni.nrcki.ru

Ключевые слова: лучевая терапия, масляная кислота, ионизирующие излучения, СТ26, радиорезистентность, противоопухолевая терапия

Введение. Радиорезистентность, индуцированная действием ионизирующего излучения (ИИ) при проведении лучевой терапии злокачественных новообразований, часто является непреодолимым препятствием на пути излечения пациента. Поиск механизмов преодоления нечувствительности клеток опухоли к действию ИИ является важной прикладной и фундаментальной задачей, позволяющей пролить свет на факторы, ответственные за формирование радиорезистентности.

Цель исследования — оценка изменения чувствительности клеток линии СТ26 с радиорезистентным фенотипом к действию ИИ на фоне инкубации с натриевой солью масляной кислоты (NaВ).

Материалы и методы. В серии облучений в гамма-установке РХ-γ-30 (60Co) из клеток СТ26 дикого типа (СТ26 WT) была получена и охарактеризована субпопуляция клеток СТ26 с радиорезистентным фенотипом (СТ26 RR). Клетки СТ26 RR демонстрировали меньшую чувствительность, чем СТ26 WT к действию ИИ в диапазоне доз 0–4 Гр. Исследование радиочувствительности проводили при облучении в диапазоне доз от 0 до 20 Гр (0–2–4–6–8–10–20 Гр), выживаемость клеток после облучения оценивали с использованием МТТ-теста, цитометрического анализа и анализатора клеточного импеданса.

Результаты. При добавлении к клеткам СТ26 RR 0,5 mM NaВ за 1 сут до облучения наблюдали увеличение чувствительности клеток к действию ИИ

в диапазоне доз 0–4 Гр в сравнении с клетками контрольной группы. Для дозы облучения 2 Гр чувствительность увеличилась на 17 % ($p < 0,01$), для дозы 4 Гр чувствительность увеличилась на 15 % ($p < 0,01$). В диапазоне доз от 6 до 20 Гр достоверных отличий не наблюдали. В добавлении 0,5 мМ NaB к клеткам СТ26 WT не наблюдали достоверных отличий во всем диапазоне исследованных доз.

Заключение. Применение NaB привело к увеличению чувствительности клеток СТ26 RR к действию ИИ в диапазоне доз 0–4 Гр, однако радиочувствительность не вернулась к уровню СТ26 WT. Ингибитор гистоновых деацетилаз NaB оказывает влияние на эпигенетические свойства клетки, что указывает на эпигенетическую природу индуцированной радиорезистентности.

ТРАНСКРИПЦИОННОЕ ПЕРЕПРОГРАММИРОВАНИЕ ЕСТЕСТВЕННЫХ КИЛЛЕРОВ В МОДЕЛИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ

С.О. Вершинина¹, А.А. Штиль²

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет ИТМО», Санкт-Петербург;

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва
e-mail: sovershinina@itmo.ru

Ключевые слова: естественные клетки-киллеры, циклинзависимые киназы

Введение. Гиперактивация иммунной системы приводит к серьезным осложнениям многих заболеваний. Поиск подходов к регуляции активности иммунокомпетентных клеток – важная задача биомедицины. Естественные клетки-киллеры (НК) – компонент системы врожденного иммунитета. Эти клетки вызывают гибель опухолевых и инфицированных клеток-мишеней посредством продукции многочисленных цитокинов. Рецепторы NKp30 и NKp44 являются активирующими и играют взаимодополняющие роли во врожденном иммунитете как основные детерминанты цитотоксичности НК-клеток, в то время как рецептор KIR2DL4 – ингибирующий (играет важную роль в воспалительном микроокружении рака молочной железы). Мы предложили роль циклинзависимых киназ CDK8/19, опосредующих перепрограммирование транскрипции генов в ответ на внешние воздействия, в регуляции генов, кодирующих рецепторы НК-клеток.

Цель исследования – изучить роль транскрипционного перепрограммирования в экспрессии генов цитокинов и рецепторов НК-клеток.

Материалы и методы. Культивирование клеток линии NK-92 в присутствии интерлейкина (IL-2), необходимого для пролиферации и дифференцировки клеток, а также анализ мРНК генов рецепторов CD56, NKp30, NKp44, KIR2DL4 и цитокинов трансформи-

рующего фактора роста β (TGF- β), фактора некроза опухоли α (TNF- α), интерферона γ (IFN- γ), IL-10 с использованием полимеразной цепной реакции в реальном времени. Для анализа данных использовали пакет статистических программ GraphPad.

Результаты. Цитокины IL-10, -15, -18, TGF- β , TNF- α индуцируют экспрессию поверхностных рецепторов НК-клеток. Фармакологический ингибитор CDK8/19 оказывает разнонаправленное воздействие на экспрессию отдельных генов. Ингибирование CDK8/19 на модели воспалительного микроокружения чаще приводит к снижению экспрессии генов про- (IL-10, TGF- β) и противовоспалительных цитокинов (IL-15, IL-18, TNF- α , IFN- γ) в НК-клетках. Эффективность ингибитора CDK8/19 варьирует при действии различных цитокинов, что позволяет предположить различия в уровне экспрессии и/или роли CDK8/19 в реализации иммунного ответа. Предположительно такой подход к регуляции воспаления будет избирательно влиять на экспрессию про- и противовоспалительных цитокинов в НК-клетках в зависимости от их дифференцировки.

Заключение. Транскрипционные киназы CDK8/19 регулируют экспрессию генов цитокинов и рецепторов в НК-клетках, главным образом ограничивая воспалительные ответы. Требуется углубленное изучение ингибиторов CDK8/19 для модулирования цитотоксичности НК-клеток в опухолевом микроокружении.

ВОЗРАСТНЫЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОСТРОГО МИЕЛОБЛАСТНОГО ЛЕЙКОЗА БЕЗ СОЗРЕВАНИЯ В УСЛОВИЯХ ЭПИДЕМИИ COVID-19

А.В. Виноградов¹, С.В. Сазонов^{2,3}

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

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

³ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург
e-mail: vinogradov-av@ya.ru

Ключевые слова: острый миелобластный лейкоз без созревания, мутации, возраст

Введение. Острый миелобластный лейкоз без созревания (ОМЛ М1) является морфологическим подтипом острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), характеризующимся пролиферацией в костном мозге 20 % и более миелобластов, при этом доля созревающих клеток гранулоцитарного ряда составляет менее 10 %. Клинически ОМЛ М1 характеризуется неблагоприятным прогнозом общей выживаемости, высокой частотой резистентности и рецидивов опухоли.

Цель исследования – определить возрастные особенности и генетический профиль ОМЛ М1 у взрослых больных.

Материалы и методы. В анализ включены 27 больных ОМЛ М1 в возрасте от 27 до 82 лет, проходивших лечение в 2020–2022 гг. в период эпидемии COVID-19. Больным на этапе диагностики ОМЛ выполняли цитологическое и цитохимическое исследование, иммунофенотипирование, цитогенетический анализ, детекцию химерных транскриптов BCR-ABL, CBFB-MYH11, AML1-ETO, MLL MLLT3 с помощью полимеразной цепной реакции, мутаций генов *FLT3* и *NPM1* методом фрагментного анализа.

Результаты. Большинство больных исследуемой группы были пожилого ($n = 10$) и старческого ($n = 5$) возраста. В 5 случаях ОМЛ диагностирован у молодых пациентов, в 7 – у больных зрелого возраста. При цитогенетическом исследовании в 8 случаях выявлен нормальный кариотип, в 9 – генетические аномалии, ассоциированные с миелодисплазией, по 2 случая – трисомии хромосом 10 и 13 и аномалии $del(9q)$, $i(11q)$, по 1 случаю – транслокация $t(8;21)$ в сочетании с гипердиплоидией и $t(9;11)$. В 2 последних образцах также определялась экспрессия транскриптов химерных генов AML1-ETO и MLL-MLLT3 соответственно. Неуточненный вариант кариотипа вследствие отсутствия метафазных пластинок установлен в 4 наблюдениях. В 8 пробах выявлены мутации в гене *FLT3*, из них 6 – внутренние тандемные дупликации (ITD), 2 – мутации тирозинкиназного домена. Наиболее часто они обнаруживались при диплоидии ($n = 4$), реже – при цитогенетических аномалиях, ассоциированных с миелодисплазией, и неуточненным кариотипом (по 2 случая). Инсерции в гене *NPM1* были выявлены в 6 случаях, из них 4 – диплоидия в сочетании с мутациями *FLT3*, 1 – неуточненный кариотип в сочетании с *FLT3* ITD, 1 – диплоидия.

При лечении больных ОМЛ М1 в возрасте моложе 60 лет использовали схемы, включавшие антрациклин в сочетании с цитарабином, в двух случаях – в сочетании с мидостаурином. Больные пожилого и старческого возраста получали лечение 6-меркаптопурином, малые дозы цитарабина либо схему 7 + 3 для пожилых, в 2 случаях – с мидостаурином. Стойкая ремиссия была достигнута у 9 пациентов, из них 6 – моложе 60 лет. Медиана наблюдения в группе *FLT3*-позитивных ОМЛ, получавших мидостаурин, составила 9 мес.

Заключение. Таким образом, ОМЛ М1 является гемобластомом, выявляющимся преимущественно у лиц пожилого и старческого возраста, характеризующимся наличием хромосомных aberrаций, ассоциированных с миелодисплазией, несколько реже – генных мутаций *FLT3* (29,6%), *NPM1* (22,2%) и неблагоприятным прогнозом.

АКТИВАЦИЯ РЕТРОТРАНСПОЗИЦИИ LINE-1 ФИЗЕТИНОМ И ГЕНИСТЕИНОМ НА КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ HELa

О.А. Власова¹, М.А. Усолкина², П.А. Штомпель¹,
А.А. Борунова¹, Т.Н. Заботина¹, К.И. Кирсанов^{1,3},
М.Г. Якубовская¹

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

²РТУ МИРЭА «Институт тонких химических технологий»,
Москва;

³ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов
им. Патриса Лумумбы», Москва
e-mail: Olya_vlasov@mail.ru

Ключевые слова: малые ДНК-тропные соединения, генистеин, физетин, LINE-1

Введение. Для природных полифенолов генистеина и физетина ранее нами было показано их непосредственное нековалентное взаимодействие с ДНК, что оказывает влияние на процессы компактизации хроматина, в том числе на связь с хроматином линкерного гистона H1. Нарушение нормального способа процесса упаковки ДНК и снятие эпигенетической репрессии, также показанное для данных соединений, могут опосредовать активацию экспрессии в норме репрессированных некодирующих последовательностей в гетерохроматине, включая длинные диспергированные повторы LINE-1, дцРНК которых детектируется рецепторами пути интерферона I типа. Поскольку индукция интерферонового сигналинга является одним из возможных механизмов антиканцерогенного действия исследуемых соединений, нами был проведен анализ их влияния на активацию ретро-транспозиции LINE-1.

Цель исследования – исследование влияния малых ДНК-тропных соединений генистеина и физетина на экспрессию LINE-1.

Материалы и методы. Уровень специфической транскрипции LINE-1 оценивали методом иммунофлуоресцентного окрашивания клеток (антителами к белкам ORF1 LINE-1 и H2Ax- γ) с последующим анализом распределений популяций обработанных и контрольных клеток на проточном цитометре (BD FACS Calibur). Клетки HeLa были обработаны соединениями интереса в концентрациях IC_{20} с временной экспозицией 72 ч. Количество фокусов H2Ax- γ оценивали методом иммунофлуоресцентного окрашивания клеток и анализе фотографий, полученных на микроскопе Zeiss Axio Observer.

Результаты. При воздействии соединений генистеина и физетина нами показано статистически значимое увеличение количества белка ORF1 LINE-1 в клетках HeLa в 1,9 и 1,5 раза соответственно. Количество белка H2Ax- γ в то же время возрастало в 3,2 раза для генистеина и 1,8 раза – для физетина, что подтверждалось статистически значимым увеличением количества фокусов H2Ax- γ . Кроме того, нами обнаружено, что при

комбинировании исследуемых соединений с нуклеозидными ингибиторами обратной транскриптазы (ламивудин 20 μM и зидовудин 20 μM) наблюдалось снижение продемонстрированных эффектов, причем в комбинации как генистеина, так и физетина с коктейлем ингибиторов обратной транскриптазы (ламивудин 10 μM + зидовудин 10 μM) количество белка ORF1 LINE-1 и H2Ax- γ полностью возвращалось к контрольным значениям.

Заключение. Воздействие малых ДНК-тропных соединений генистеина и физетина приводит к появлению статистически значимого увеличения экспрессии ретротранспозонов LINE1.

Работа поддержана грантом РФФ № 23-25-00276.

АУТОФАГИЯ КАК ФАКТОР РАЗВИТИЯ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ОСТЕОСАРКОМ

М.А. Галчева, М.А. Микеладзе, И.В. Гужова, Б.А. Маргулис
ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург
e-mail: margulis@incras.ru

Ключевые слова: остеосаркома, аутофагия, резистентность

Введение. Преодоление лекарственной устойчивости (ЛУ) остается актуальной проблемой в онкологии. Низкий ответ на химиотерапию обусловлен формированием резистентности к препаратам, возникающей из-за активации защитных систем опухолевых клеток, одной из которых является аутофагия. Данный механизм позволяет трансформированным клеткам утилизировать поврежденные органеллы и белки, блокируя процессы клеточной гибели. Все эти события влекут за собой снижение чувствительности опухоли к терапии и дальнейшее развитие новообразования. В такой ситуации многообещающей стратегией лечения представляется ингибирование аутофагии с использованием специальных агентов, таких как хлорохин. Ранее в нашей лаборатории были описаны клеточные линии остеосарком, полученные от пациентов с химиотерапевтической устойчивостью. Мы предположили, что блокирование аутофагии с использованием хлорохина повысит эффективность терапии.

Цель исследования — изучить роль аутофагии в формировании ЛУ остеосарком.

Материалы и методы. Клеточные линии остеосарком OS921 и OS1056 были получены от пациентов с приобретенной ЛУ. В качестве контроля использовали линию Nos. Восприимчивость клеток к этопозиду определяли МТТ-тестом. Экспрессию генов — маркеров аутофагии (*Ulk1*, *p62*) после терапии фиксировали с помощью ПЦР-РВ, накопление белка-маркера (*atg5*) — с использованием метода вестерн-блот. В качестве ингибитора аутофагии использовали хлорохин. Потенциал клеток образовывать колонии после сочетанной

терапии оценивали с использованием теста на образование колоний, а процент апоптоза — проточной цитометрии. Эффективность схемы лечения анализировали на 3D-модели с использованием теста на определение аденозинтрифосфата.

Результаты. Установлено, что клетки Os921 и Os1056 менее чувствительны к этопозиду, чем контрольная линия Nos. При этом уровень аутофагии после терапевтического воздействия дозозависимо повышался в каждой из линий, о чем свидетельствовали данные накопления белка *atg5* и увеличение экспрессии генов *Ulk1*, *p62*. Вместе с тем предварительная инкубация с хлорохином значительно снижала ЛУ каждой клеточной линии к этопозиду, что было показано в тесте на образование колоний. Уровень апоптоза в опухолевых популяциях также увеличивался после сочетанной терапии. Эффективность выбранной стратегии лечения также была доказана на 3D-модели, где прединкубация с хлорохином приводила к разрушению структуры сфероидов и снижению количества аденозинтрифосфата, что свидетельствовало о гибели опухолевых клеток.

Заключение. ЛУ остеосарком обусловлена активацией системы аутофагии, а ее подавление с помощью ингибитора хлорохина значительно повышает чувствительность опухолевых клеток к терапии.

НАГРУЖЕННЫЕ ЭКЗОГЕННЫМ HSP70 ВЕЗИКУЛЫ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ СПОСОБСТВУЮТ АКТИВАЦИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ИММУНИТЕТА НА КЛЕТОЧНЫХ И ЖИВОТНЫХ МОДЕЛЯХ

Л.А.-А. Гараева¹, Е.Ю. Комарова², С.С. Емельянова¹,
И.В. Гужова², Б.А. Маргулис², А.Л. Коневга^{1,3,4},
Т.А. Штам¹⁻³

¹ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский Институт», Гатчина;

²ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург;

³НИЦ «Курчатовский Институт», Москва;

⁴ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», Санкт-Петербург
e-mail: garaeva la@npi.nrcki.ru

Ключевые слова: везикулы растительного происхождения, экзосомы, HSP70, активация противоопухолевого иммунного ответа, система доставки терапевтических биомолекул.

Введение. Растительные экстраклеточные везикулы (PEVs) все чаще рассматривают в качестве доставщиков терапевтических экзогенных биомолекул, в частности для лечения злокачественных новообразований. Активация противоопухолевого иммунитета, в том числе на основе иммуномодулирующих свойств белка HSP70, считается одним из перспективных направлений

для терапии опухолевых заболеваний. Согласно гипотезе, экзогенный шаперон HSP70 способствует экспорту клеточного HSP70 в тандеме со специфическими опухолевыми белками на поверхность клеток и во внеклеточное пространство, что приводит к обнаружению таких комплексов антигенпрезентирующими клетками, процессингу антигенов и активации цитотоксических лимфоцитов. В свою очередь, эффективная доставка экзогенного HSP70 к клеткам опухоли потенциально могла бы быть осуществлена при помощи PEVs.

Цель исследования – оценка возможности использования нагруженных экзогенным HSP70 внеклеточных везикул, полученных из сока грейпфрута (GEVs), для активации противоопухолевого иммунного ответа на клеточных и животных моделях.

Материалы и методы. Нагрузку HSP70 в GEVs осуществляли с помощью ультразвука. Эффективность доставки экзогенного HSP70 при помощи GEVs к клеткам человека *in vitro* определяли методом проточной цитометрии. Цитотоксическое воздействие NK-клеток и CD8⁺ Т-лимфоцитов, полученных из селезенки мышей линии СЗНА, на клеточную линию СТ26 прединкубированную с нагруженными HSP70 GEVs, оценивали на системе xCELLigence в режиме реального времени. Оценку влияния нагруженных HSP70 GEVs на продолжительность жизни, массу и размер опухолевых новообразований *in vivo* проводили на мышинной модели карциномы толстой кишки (BALB/С мыши, привитые подкожно клетками линии СТ26). Уровень факторов TGF-β1, IL-10 в плазме крови экспериментальных животных определяли при помощи иммуноферментного анализа.

Результаты. В представленной работе показано, что белок, доставленный GEVs, накапливается более эффективно в клетках человека, чем свободный белок, *in vitro*. Для предварительно соинкубированных с нагруженными HSP70 GEVs клеток линии СТ26 наблюдалось увеличение скорости гибели при добавлении NK-клеток и CD8⁺ Т-лимфоцитов. Для мышей, привитых опухолевыми клетками с нагруженными HSP70 GEVs, было характерно увеличение продолжительности жизни и уменьшение размера опухоли в 3 раза, а также снижение уровня факторов TGF-β1, IL-10 в плазме крови. На системе xCELLigence была продемонстрирована вовлеченность CD8⁺ Т-лимфоцитов в наблюдаемые на животных моделях противоопухолевые эффекты.

Заключение. Нагруженные экзогенным HSP70 GEVs способствуют активации противоопухолевого иммунитета *in vitro* и *in vivo*.

Работа выполнена при поддержке РФФ (грант № 19-74-20146-н).

СОСТОЯНИЕ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА МИОКАРДА ПРИ ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКЕ КАРДИТОКСИЧНОСТИ КОНЬЮГАТОВ ДАУНОРУБИЦИНА С ДЕГИДРОКОСТУСЛАКТОНОМ И ЭПОКСИИЗОАЛАНТОЛАКТОНОМ

А.А. Глоба, А.В. Семаков, С.А. Пухов, Л.В. Аникина, С.В. Афанасьева

Институт физиологически активных веществ ФГБУН «ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН», Черноголовка
e-mail: globa271194@mail.ru

Ключевые слова: даунорубин, кардиотоксичность, конъюгаты даунорубина с сесквитерпеновыми лактонами

Введение. Кардиотоксичность антрациклиновых антибиотиков связана не только с влиянием на паренхиму, но и на строму сердца, поэтому при оценке кардиотоксических свойств производных даунорубина (DNR) большое значение имеет состояние сосудистого компонента миокарда.

Цель исследования – изучить состояние микроциркуляторного русла миокарда левого желудочка после введения DNR, его конъюгатов с дегидрокостуслактоном (DNR-SL62) и эпоксиизоалантолактоном (DNR-L04).

Материалы и методы. Исследование проведено на 56 половозрелых мышах-самцах линии С57Bl/6, которые были разделены на 4 группы: контроль с физиологическим раствором и опытные группы. Введение проводили 1 раз в неделю в течение 4 нед внутрибрюшинно. Кумулятивная доза DNR составила 5 мг/кг, конъюгатов – 20 мг/кг. Животных из каждой группы (по 7 мышей) выводили из эксперимента в острой фазе лечения и после восстановительного периода. Гистологические препараты изготавливали по стандартной методике Г.А. Меркулова (1961), срезы сердца окрашивали гематоксилином и эозином. Для количественной оценки состояния микроциркуляторного русла использовали такие показатели, как трофический индекс, зона перикапиллярной диффузии и индекс Керногана. Статистический анализ проводили при помощи непараметрического критерия Манна–Уитни.

Результаты. В ходе исследования установлено, что влияние на исследуемые параметры, количественно характеризующие состояние микроциркуляторного русла, изменяется в ряду DNR > DNR-SL62 > DNR-L04 > контроль, что согласуется с нашими предыдущими данными по оценке влияния изучаемых соединений на морфологию кардиомиоцитов и структурное состояние миокарда.

Заключение. Конъюгат даунорубина с эпоксиизоалантолактоном имеет менее выраженное влияние как на паренхиму, так и на строму миокарда, и на

основании этого выбирается в качестве соединения-хита с меньшей кардиотоксичностью.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИФАВ РАН 2021–2023 гг. (тема № FFSN-2021-0013).

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ АКТИВАЦИИ АНГИОГЕНЕЗА КАК ТОЧКИ ПРИЛОЖЕНИЯ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНЫХ КАРЦИНОМАХ

Е. П. Голубинская, Б. Д. Сеферов, А. Э. Лазарев, М. А. Кальфа, В. А. Кубышкин, Е. Ю. Зяблицкая
ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», Симферополь
e-mail: evgu79@mail.ru

Ключевые слова: колоректальный рак, персонализированная терапия, микроокружение опухоли, ангиогенез

Введение. Развитие микрососудистого русла, синхронное опухолевой прогрессии, содействует ее росту и развитию экстратуморозных очагов. Поиск молекулярных точек приложения при резистентных формах рака толстой кишки является актуальной задачей, одним из новых направлений решения которой выбрано воздействие на ангиогенез. Разработка селективных и позже разноклоновых ингибиторов активности сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) показала первичную высокую эффективность антиангиогенной терапии с последующим ее снижением [1, 2].

Цель исследования — изучить молекулярные маркеры активации ангиогенеза как точки приложения терапии колоректальных карцином.

Материалы и методы. Методом иммуногистохимии (ИГХ) с антителами iNOS, TNF α , HIF α , VEGF-A, ANG1, ANG2, TIE2 исследованы по 130 образцов ткани метастатической и неметастатической колоректальной карциномы.

Результаты. ИГХ-методами выявлено два пути активации ангиогенеза: 1) зависимый от фактора роста сосудов, определяемого маркером VEGF-A, рост активности которого связан с уровнем фактора гипоксии и локализован непосредственно в эндотелиоцитах; 2) зависимый от ангиопоэтина, реализуемый через тирозинкиназу, определяемую маркером TIE2, запускаемый как клетками опухоли, так и ее микроокружения. Среди исследуемых образцов не выявлены случаи с негативной экспрессией маркеров ANG1 и ANG2.

Заключение. Назначение таргетной терапии блокаторами ангиогенеза целесообразно после оценки ИГХ-статуса для прогноза эффективности. Нацеливание на изучение опухолевого микроокружения представляет практический интерес для выявления молекулярных маркеров как точек приложения персонализированной терапии.

Литература

1. Pineda E., Salud A., Vila-Navarro E. et al. Dynamic soluble changes in sVEGFR1, HGF, and VEGF promote chemotherapy and bevacizumab resistance: A prospective translational study in the BECOX (GEMCAD 09–01) trial. *Tumour Biol.* 2017;39(6):1010428317705509. DOI: 10.1177/1010428317705509
2. Carbone C., Piro G., Simionato F. et al. Homeobox B9 mediates resistance to anti-VEGF therapy in colorectal cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2017; 23(15):4312–22. DOI: 10.1158/1078–0432.CCR-16–3153

Работа выполнена при поддержке государственного задания FZEG-2023-0009 «Изучение гетерогенности микроокружения опухоли как фактора ее агрессивности и резистентности к терапии».

ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ СИНЕФРИНА НА МОДЕЛЯХ ОПУХОЛЕЙ КРОВЕТВОРНОЙ СИСТЕМЫ

Д. Д. Григорьева¹, Е. М. Жидкова¹, Е. А. Михина², Е. С. Олейник², Л. Е. Гребенкина², А. В. Матвеев², М. Г. Якубовская¹, Е. А. Лесовая^{1,3,4}

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

²ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет», Москва;

³ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава России, Рязань;

⁴ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва
e-mail: grigodidmit@gmail.com

Ключевые слова: аналоги синефрина, глюкокортикоидный рецептор, лейкоз, лимфома

Введение. Синефрин (4-[1-гидрокси-2-(метиламино)этил]фенол) — природный антиоксидант, источником которого являются цитрусовые подсемейства померанцевых (*Citrus aurantium*). Синефрин обладает бронхопротективным действием, проявляет антиоксидантные и противовоспалительные свойства. Описан супрессивный эффект синефрина на пролиферацию клеток и активацию сигнальных путей АКТ и ERK в клетках рака пищевода, а его производное (R-(-)-бета-О-метилсинифрин) ингибирует ангиогенез на моделях *in vivo* и *in vitro*. В связи с этим нами был проведен синтез ряда производных синефрина, модифицированных по фенольному гидроксилу и/или по атому азота 2-гидроксиаминоэтильного радикала.

Цель исследования — провести синтез, а также оценку цитотоксичности производных синефрина.

Материалы и методы. Синтез производных синефрина проводили из п-алкоксигалогенацетофенонов,

полученных из анизолола или бензилоксibenзола и хлорацетилхлорида или бромацетилбромидом, их обработкой алкиламинами в присутствии основания. Для исследования цитотоксичности соединений в работе использовали культуры клеток мантийноклеточной лимфомы Granta и хронического миелоидного лейкоза K562. Цитотоксическое действие оценивали после инкубации 24 ч при помощи МТТ-теста. Для анализа антипролиферативного эффекта проводили прямой подсчет клеток с окрашиванием трипановым синим после 72 ч инкубации с исследуемыми соединениями. Для соединений, проявивших цитотоксическое действие, анализировали уровень запуска апоптоза по накоплению каспазы-3 методом вестерн-блоттинга.

Результаты. Показано, что производные синефрина 1S-B1, 4S-C2, 7S-E1 и 8S-E4 проявляют цитотоксическое действие в отношении клеток Granta и K562 в МТТ-тесте. Цитотоксические эффекты исследуемых соединений ассоциированы с индукцией апоптоза в клетках.

Заключение. Получены синтетические производные синефрина. Для производных 1S-B1, 4S-C2, 7S-E1 и 8S-E4 было показано цитотоксическое действие на моделях опухолей кровяной системы *in vitro*.

Работа поддержана РФФ (грант № 23-15-00321).

УЧАСТИЕ В СОРТИРОВКЕ МИКРОРНК И ВЛИЯНИЕ НА АГРЕССИВНОСТЬ ОПУХОЛИ HSP70, СОДЕРЖАЩЕГОСЯ В ЭКЗОСОМАХ РАКОВЫХ КЛЕТОК

И.В. Гужова

ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург
e-mail: irina.guzh@gmail.com

Ключевые слова: Hsp70, микроРНК, внеклеточные везикулы, противоопухолевый эффект

Hsp70 является маркером внеклеточных везикул (ВВ) и может играть про- или противоопухолевую роль в зависимости от его содержания в клетке и ВВ. Ранее мы установили, что клетки меланомы В16 и рака кишечника мыши СТ-26 при введении животным вместе с ВВ, обогащенными Hsp70, стимулировали мощный противоопухолевый эффект, о чем свидетельствовало двукратное снижение скорости роста опухоли и значительное увеличение продолжительности жизни. Иммуномодулирующий эффект был обусловлен усилением CD8⁺-ответа и накоплением противоопухолевых цитокинов. При этом мы не наблюдали задержки роста опухолей СТ-26, когда ВВ, обогащенные Hsp70, были привиты мышам с дефицитом CD8⁺-клеток. Кроме того, введение ВВ, несущих Hsp70, приводило к снижению количества аргиназа-1-положительных макрофагов, что указывало на роль проопухолевых макрофагов в повышении устойчивости опухолевых клеток к химиопрепара-

там. Предположив, что противоопухолевые свойства обогащенных Hsp70 ВВ связаны с репертуаром микроРНК, мы получили Hsp70⁽⁺⁾ и Hsp70⁽⁻⁾ ВВ и с помощью метода RNAseq и полимеразной цепной реакции провели анализ miR и установили, что в зависимости от присутствия Hsp70 репертуар miR существенно различается в клетках рака легкого и рака яичника человека. Это особенно справедливо для miR-126, и мы проверили, как повышение и понижение экспрессии miR-126 влияет на пролиферацию, клоногенную способность и чувствительность к противораковым препаратам в клетках рака легкого и овариального рака человека.

В проведенном исследовании нами установлено, что повышенное содержание miR-126 подавляет пролиферацию опухолевых клеток и их клоногенную способность, а также повышает чувствительность к оксалиплатину. Наши данные показывают, что Hsp70 может участвовать в сортировке микроРНК в экзосомах, производимых опухолевыми клетками.

Работа поддержана грантом РФФ № 19-74-20161.

МАССОВАЯ ГЕНЕРАЦИЯ КОНВЕНЦИОНАЛЬНЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК 1-го ТИПА ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ РАКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Э.Т. Дегирменджи, О.В. Реган, И.М. Самохвалов
ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет
им. В.И. Вернадского», Симферополь
e-mail: evelinadegirmenji@yandex.ru

Ключевые слова: дендритные клетки, плюрипотентные стволовые клетки, дифференцировка, гемопоэз, иммунотерапия рака

Введение. Использование дендритных клеток (ДК) для индукции специфичной иммунной реакции на опухолевые антигены по-прежнему является одним из перспективных направлений иммунотерапии раковых заболеваний. Полученные из моноцитов крови пациента ДК (мо-ДК) отличаются низкой способностью к кросспрезентации и мобильностью *in vivo*. Более того, многие исследователи не считают мо-ДК дендритными клетками. В то же время было убедительно показано, что конвенциональные ДК 1-го типа (кДК1) обладают повышенной способностью к кросспрезентации вирусных, бактериальных, а также некротических опухолевых антигенов, что приводит к наиболее эффективному праймированию CD8⁺ Т-клеток. Таким образом, кДК1 эффективно индуцируют цитотоксические лимфоциты, способные напрямую уничтожать опухолевые клетки. В организме кДК1 образуются из соответствующих прогениторов в ходе гемопоэза в костном мозге. Использование костного мозга пациента для генерации кДК1 связано с большими трудностями и ограничено по количеству получаемых ДК.

Альтернативный подход — использование плюрипотентных стволовых клеток человека (чПСК) для генерации терапевтических ДК. Однако не ясно, могут ли чПСК эффективно продуцировать кДК1, развитие которых зависит от прогениторов, образующихся в костном мозге. В этом исследовании мы подобрали условия для массового производства высокоактивных кДК1 из чПСК.

Цель исследования — разработка оригинальной биотехнологии получения терапевтических количеств высокоактивных кДК1 в контролируемых условиях гемопоэтической дифференцировки чПСК.

Материалы и методы. Культивация чПСК была проведена в среде mTeSR1 или Гибри С-8 на витронектине. Гемопоэтическую дифференцировку чПСК осуществляли в безсывороточной среде в присутствии VEGF и BMP4 без добавления гемопоэтических цитокинов. Индукцию генерации ДК из гемопоэтических предшественников осуществляли с помощью гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора и интерлейкина — IL-4. Анализ клеточного фенотипа и секреции цитокинов проводили с помощью проточной цитометрии и ELISA соответственно.

Результаты. Подобраны оптимальные условия для массовой генерации кДК1 из чПСК — до 3×10^7 клеток с одной стандартной 6-луночной планшеты. Полученные кДК1 обладали характерным фенотипом: CD14⁻CD11c^{low}HLA-DR⁺CD141⁺XCR1⁺. Активация кДК1 с помощью бактериального липополисахарида приводила к появлению маркеров созревания CD80 и CD86. До активации кДК1 проявляли способность к фагоцитозу, обладали характерной высокой мотильностью. Активированные кДК1 эффективно индуцировали пролиферацию Т-клеток в реакции смешанных лимфоцитов и обладали способностью продуцировать IL-12 и фактор некроза опухоли α . Были также подобраны условия для длительного культивирования чПСК-кДК1 — до 1 мес в стандартных условиях инкубации.

Заключение. Наши эксперименты показали, что кДК1 могут эффективно образовываться в такой развитой (вне костного мозга) системе, как гемопоэтическая дифференцировка чПСК. Массовая генерация высокоэффективных кДК1 создает реальные условия для их применения в иммунотерапии раковых заболеваний.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 22-15-20063).

ИНГИБИТОРЫ FGF/FGFR-СИГНАЛЬНОГО ПУТИ (NSC-12, PD173074) ПОВЫШАЮТ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ИМАТИНИБ-РЕЗИСТЕНТНЫХ КЛЕТОК ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ К РЕГАРОФЕНИБУ

П.Д. Дунаев, С.В. Бойчук

ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань
e-mail: dunaevpavel@mail.ru

Ключевые слова: гастроинтестинальная стромальная опухоль, таргетные препараты, резистентность к иматинибу, FGF/FGFR-сигнальный путь, регарофениб

Введение. Активация FGF/FGFR- и VEGF/VEGFR-сигнальных путей играет важную роль в патогенезе многих злокачественных новообразований, а развитие резистентности опухолевых клеток к селективным ингибиторам указанных сигнальных путей рассматривается в качестве одного из механизмов их прогрессирования. Для изучения функциональной взаимосвязи между данными сигнальными путями в патогенезе гастроинтестинальных стромальных опухолей (ГИСО) было предпринято исследование с использованием полученной в нашей лаборатории иматиниб (ИМ) — резистентной сублинии ГИСО с признаками активации FGF-сигнального пути, обусловленного гиперпродукцией FGF-2 лиганда и гиперэкспрессией FGFR1/2.

Цель исследования — оценить уровень активации VEGF-сигнального пути в ИМ-резистентных ГИСО и изучить цитотоксическую активность ингибиторов FGFR- и VEGFR-сигнальных путей в отношении данных опухолевых клеток.

Материалы и методы. Клетки ГИСО культивировали в питательной среде RPMI-1640 с L-глутамином («ПанЭко», Россия) с добавлением 15 % эмбриональной телячьей сыворотки (Biological Industries, Израиль) и антибиотиков («ПанЭко», Россия). К клеткам ГИСО добавлялись препараты NSC-12 (ингибитор FGF-2/FGFR), PD173074 (ингибитор FGFR1 и VEGFR2) и регарофениб (ингибитор VEGFR1–3, PDGFR β , c-Kit, c-RET, Raf-1). В отдельных случаях клетки культивировали в присутствии комбинации ингибиторов (NSC-2 + регарофениб и PD173074 + регарофениб). Оценку уровней экспрессии VEGFR1–3, FGFR1–4, FRS-2, c-Kit, а также маркеров апоптоза (расщепленные формы ПАРП и каспазы-3) проводили методом иммуноблоттинга. Оценку пролиферативной способности клеток ГИСО проводили путем измерения клеточного индекса в режиме реального времени с помощью клеточного анализатора RTCA iCELLigence (ACEA Biosciences, США). Жизнеспособность клеток оценивали с помощью колориметрического MTS-теста (Promega, США) и окрашиванием клеточных культур

кристаллическим фиолетовым («ТатХимПродукт», Россия).

Результаты. На фоне развития резистентности ГИСО к ИМ в клетках отмечено резкое снижение экспрессии фосфорилированной и общей форм c-Kit, а также гиперэкспрессия общих форм VEGFR1–3 и фосфорилированной формы VEGFR-2. Воздействие на опухолевые клетки указанных препаратов в отдельности не оказывало ингибирующего влияния на их жизнеспособность и пролиферативную активность. В то же время сочетанное использование ингибиторов FGFR- и VEGFR-сигнальных путей приводило к значимому снижению скорости пролиферации опухолевых клеток и индуцировало их гибель по механизму апоптоза.

Заключение. На фоне развития резистентности к ИМ происходят изменения «киназного профиля» клеток ГИСО, заключающиеся в активации FGFR- и VEGFR-сигнальных путей и ингибировании Kit-сигнального пути без возникновения вторичных мутаций гена *KIT*. Это является предпосылкой для рассмотрения целесообразности комбинированного применения FGFR- и VEGFR-ингибиторов для пациентов с ГИСО, прогрессирующих на фоне проводимой терапии ИМ в условиях снижения уровня экспрессии c-Kit и активации указанных сигнальных путей.

Работа выполнена при финансировании РНФ (грант № 20-15-00001).

НОВЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ ЛИНИИ ГЛИОБЛАСТОМ: АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ, ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К РАДИО- И ИММУНОТЕРАПИИ

С. С. Емельянова¹, А. В. Волницкий¹, Л. А. -А. Гараева^{1,2},
А. С. Потысьева^{1,2}, М. С. Биджиева^{1,2}, Е. Д. Путевич^{1,2},
А. М. Соляник^{1,2}, Н. Х. Чан^{1,2}, В. С. Бурдаков¹, Н. А. Верлов¹,
А. Л. Коневега^{1,2}, Т. А. Штам^{1,2}

¹ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский Институт», Гатчина;

²ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», Санкт-Петербург
e-mail: emelyanova_ss@npi.nrcki.ru

Ключевые слова: глиобластома, новые клеточные линии, чувствительность, радиотерапия, иммунотерапия

Введение. Глиобластома (ГБ) – первичная опухоль головного мозга, плохо поддающаяся лечению. ГБ разных пациентов отличаются по морфологии и генетическим особенностям клеток. Получение новых клеточных линий ГБ позволит повысить эффективность существующих схем терапии и разработать новые.

Цель исследования – генетическая характеристика новых клеточных линий ГБ, оценка их чувствительности к радио- и иммунотерапии.

Материалы и методы. Для клеточных линий ГБ (G1-R, G1-Tr, G1-L, G1-Sh, G1-C, G1-F), полученных из опухолевой ткани пациентов, определяли наличие мутаций в генах *IDH-1*, *IDH-2* и *TP53* (секвенирование по Сэнгеру), экспрессию генов *TP73*, *VEGF-A*, *VEGFR-1* (полимеразной цепной реакцией в реальном времени), выживаемость после облучения рентгеном и γ -лучами (МТТ-тест и окрашивание колоний), выживаемость после обработки авастинном и антителами к рецептору VEGFR-1 (xCELLigence).

Результаты. Исследованные ГБ не имели мутаций в генах *IDH-1* и *IDH-2*, что подтверждало их первичное происхождение и неблагоприятный прогноз лечения.

G1-Tr и G1-L были устойчивее к рентгену и γ -облучению, чем остальные линии и стандартная линия клеток ГБ A-172. Вероятно, это связано с наличием в них малоописанной патогенной мутации в гене *TP53* – p.Arg110Pro. Кроме того, в клетках G1-L отсутствовала экспрессия онкосупрессорной изоформы дублера TP53 – белка P73.

Для исследуемых ГБ была показана экспрессия РНК гена *VEGF-A* и его рецептора. В G1-L, G1-Sh, G1-F наблюдалась высокая экспрессия РНК *VEGF-A* при незначительно повышенной (относительно A172) экспрессии гена *VEGFR-1*. В G1-R, напротив, был высоко экспрессирован ген *VEGFR-1* при незначительном повышении экспрессии гена *VEGF-A*.

На G1-Tr была опробована иммунотерапия с использованием авастина, связывающего VEGF, и антител, связывающих рецептор VEGFR-1. В G1-Tr экспрессия гена *VEGF-A* была соизмерима с A-172, экспрессия гена *VEGFR-1* была в 3 раза выше. Ни авастин, ни антитела к VEGFR-1 не оказывали существенного влияния на рост культуры A-172. Напротив, и авастин, и антитела к VEGFR-1 существенно подавляли рост G1-Tr (более чем на 50 и 90 % соответственно). Совместное использование авастина и антител к VEGFR-1 полностью подавляло рост G1-Tr.

Заключение. Использование описанных линий ГБ может стать перспективной моделью для исследования формирования устойчивости опухолевых клеток к радиотерапии и эффективности проведения иммунотерапии.

Работа поддержана Минобрнауки России (проект № 075-15-2021-1360).

РЕЗИСТЕНТНОСТЬ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ К РЕТИНОВОЙ КИСЛОТЕ АССОЦИИРОВАНА С ПОВЫШЕНИЕМ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ЯДЕРНОГО РЕЦЕПТОРА RAR β

А.Д. Еникеев¹, А.М. Керемет², А.А. Беляева¹,
С.А. Кузьмичев¹, Е.М. Чевкина¹

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

²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова», Москва
e-mail: adelbufyeni@mail.ru

Ключевые слова: ретиновая кислота, RAR α , RAR β , рак молочной железы, резистентность, ретиновая кислота

Введение. Ретиновая кислота (РК) и ее производные рассматриваются в качестве перспективных противоопухолевых терапевтических агентов, однако использование ретиноидов в терапии солидных опухолей ограничено вследствие быстро приобретаемой резистентности. Внутриклеточная активность РК реализуется с помощью ядерных рецепторов, прежде всего RAR α и RAR β , которые индуцируют транскрипцию ряда дифференцировочных и апоптотических генов. Согласно некоторым литературным и нашим собственным данным, активность RAR α связана с чувствительностью клеток к РК, при этом роль RAR β в РК-резистентности клеток неоднозначна и малоизученна.

Цель исследования – изучить экспрессию мРНК RAR β в клетках рака молочной железы (РМЖ) с различным уровнем чувствительности/резистентности к РК.

Материалы и методы. Клеточные линии РМЖ: SKBR3, T47D, MCF7, HCC1954, HCC1937, MDA-MB-468, MDA-MB-231, HBL100. Относительный уровень мРНК RAR β оценивали с помощью метода полимеразной цепной реакции в реальном времени. Статистический анализ проводили с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни. Статистически значимыми во всех случаях считали значения $p < 0,05$. Все данные были получены в результате 3 независимых экспериментов.

Результаты. Ранее мы показали, что клетки РМЖ по уровню чувствительности к РК могут различаться. Так, к РК-чувствительным относятся SKBR3, T47D, MCF7, HCC1954, к РК-резистентным HCC1937, MDA-MB-468, MDA-MB-231, HBL100. При этом MDA-MB-231, HBL100 характеризуются максимальной резистентностью к РК. Анализ экспрессии мРНК RAR β в клетках РМЖ показал, что уровень RAR β в РК-чувствительных клетках был значительно ниже, чем в РК-резистентных ($p < 0,05$). Более того, значимые отличия были обнаружены между клетками с промежуточным уровнем резистентности (HCC1937, MDA-MB-468) и полностью резистентными линиями MDA-MB-231 и HBL100 ($p < 0,05$), в которых уровень RAR β был максимальным.

Заключение. Экспрессия RAR β в клетках РМЖ изменяется сонаправленно с уровнем резистентности к РК. Учитывая ранее показанную нами корреляцию экспрессии RAR α с чувствительностью клеток к РК, можно заключить, что в клетках РМЖ с повышением уровня РК-резистентности происходит снижение уровня RAR α и повышение RAR β . Такое противоположное изменение экспрессии рецепторов RAR может быть одним из механизмов формирования РК-резистентности клеток РМЖ.

ЭРИБУЛИН И ИКСАБЕПИЛОН В КЛЕТОЧНЫХ МОДЕЛЯХ МЕДУЛЛОБЛАСТОМЫ

В.И. Жданкина, Э.Р. Гандалипов

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет
ИТМО», Санкт-Петербург
e-mail: zhdankina@scamt-itmo.ru

Ключевые слова: медуллобластома, ингибиторы микротрубочек, клеточный цикл

Введение. Медуллобластома составляет примерно 20 % всех детских опухолей головного мозга, однако однозначного и универсального подхода к таргетной терапии данного заболевания до сих пор нет. Ведутся многочисленные исследования, направленные на поиск более совершенного подхода, чем используемые в настоящее время стратегии метронормальной химиотерапии с использованием этопозиды, циклофосфида, винкристина и топотекана. Одной из потенциально эффективных стратегий в лечении является применение эрибулина и иксабепилона – ингибиторов микротрубочек, эффективно проникающих через гематоэнцефалический барьер и уже активно используемых в терапии метастатического рака молочной железы со вторичными очагами в головном мозге.

Цель исследования – на модельной клеточной культуре медуллобластомы Daou исследовать активность, кинетику и характер для ранее не применявшихся в терапии медуллобластомы антимиотических препаратов – эрибулина и иксабепилона – в сравнении с используемым в клинической практике винкристином.

Материалы и методы. Во всех экспериментах использовалась модельная клеточная линия Daou (ATCC), полученная из медуллобластомы Grade III. Для исследования активности препаратов проводился цитотоксический анализ с сульфородаминем В. Кинетику действия препаратов – скорость их влияния на клеточный цикл и индукцию апоптоза – оценивали при помощи проточной цитофлуориметрии.

Результаты и обсуждение. Как эрибулин, так и иксабепилон проявляют субнанолярную активность в отношении клеточной линии Daou (эрибулин IC₅₀ = 0,9 нМ, иксабепилон IC₅₀ = 0,7 нМ), что превосходит активность винкристина, используемого в клинической практике (винкрестин IC₅₀ = 1,2 нМ). При этом активность начинается спустя первые 12 ч после

добавления препаратов, что является достаточно быстрым эффектом. Спустя 24 ч после начала инкубации большая часть клеток находится в G2-фазе клеточного цикла и предположительно арестована ввиду отсутствия активности клеточного центра. Спустя 48 ч после начала инкубации с эрибулином или иксабепилоном 90 % клеток находятся в subG1 фракции с фрагментированной ДНК, что может говорить об апоптотическом характере гибели клеток.

Заключение. Эффективность действия эрибулина и иксабепилона превосходит эффективность винкристина в отношении модельной клеточной линии медуллобластомы Grade III.

АНТИПРОЛИФЕРАТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ ОКСИМЕТИЛ-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-КАРБОКСАМИДОВ НА МОДЕЛИ РАКА ЯИЧНИКА

Е. М. Жидкова¹, Д. Д. Григорьева¹, В. П. Максимова¹,
Е. А. Михина², Л. Е. Гребенкина², Е. А. Лесовая^{1,3,4},
М. Г. Якубовская¹, А. В. Матвеев²

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

²ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический
университет», Москва;

³ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский
университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава России,
Рязань;

⁴ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов
им. Патриса Лумумбы», Москва
e-mail: e.zhdkova@ronc.ru

Ключевые слова: рак яичника, аналоги нуклеозидов, рибавирин, 1,2,4-триазол-3-карбоксамид, клеточный цикл

Введение. Рак яичника (РЯ) – одна из основных причин смертности женского населения. Основной группой риска являются женщины 60–69 лет. Высокий уровень смертности от РЯ делает актуальной разработку новых терапевтических препаратов. Аналоги нуклеозидов (например, гемцитабин) применяют во 2–3-й линии терапии РЯ.

Рибавирин 1-(β-D-рибофуранозил)-1,2,4-триазол-3-карбоксамид) – синтетический аналог нуклеозида, широко использующийся в терапии вирусных заболеваний. В последние годы ряд клинических испытаний направлен на репрофилирование рибавирина для использования в терапии злокачественных новообразований, в том числе РЯ. Однако рибавирин имеет ряд побочных эффектов, в том числе исследования *in vitro* и *in situ* показали, что рибавирин обладает тератогенным и генотоксическим действием. В связи с этим актуальна разработка синтетических производных гетероциклического основания рибавирина (1,2,4-триазол-3-карбоксамид, ТКА). Ранее были получены 2 серии производных ТКА с оксиметильными заместителями в 1-м и 5-м положении 1,2,4-триазольного кольца.

Цель исследования – оценить цитотоксические и антипролиферативные действия синтезированных аналогов рибавирина на клетки линий РЯ (OVCAR3 и OVCAR4).

Материалы и методы. Ряд производных ТКА с оксиметильными заместителями в 1-м положении получали обработкой гидрохлорида бензилового эфира 1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты 2,3-дигидрофураном или 3,4-дигидро-2Н-пираном. С оксиметильными заместителями в 5-м положении – циклизацией этил-β-N-Вос-оксаламидраза под действием хлорангидридов алкоксиуксусных кислот. Амиды производных ТКА получены аммонолизом этиловых эфиров. В работе использовали культуры клеток РЯ OVCAR3 и OVCAR4. Антипролиферативное действие оценивали после инкубации 72 ч методом прямого подсчета клеток с окрашиванием трипановым синим. Методом проточной цитофлуориметрии с окрашиванием йодистым пропидием анализировали влияние ТКА, рибавирина и производных ТКА на распределение клеток по фазам клеточного цикла после 72 ч инкубации.

Результаты. Показано, что основание ТКА обладает цитостатическим действием и снижает пролиферацию клеток линий OVCAR3 и OVCAR4 на 60 ± 4 % и 70 ± 8 %. Соединения MG1 (5-(тетрагидрофуран-2-ил) – ТКА), MG5 (5-(тетрагидропиран-2-ил) – ТКА) обладают сопоставимым с ТКА и рибавирином антипролиферативным действием. MG1 снижает пролиферацию клеток линии OVCAR3 на 52 ± 11 %, OVCAR4 на 76 ± 8 %. MG5 подавляет рост клеток OVCAR3 на 55 ± 4 %, OVCAR4 – на 77 ± 11 %. Обнаружено, что данные препараты приводят к накоплению суммарно более 70 % клеток в фазах S и G2/M, вызывая клеточный арест.

Заключение. Для производных ТКА, содержащих оксиметильные заместители в 5-м и 1-м положении 1,2,4-триазольного кольца, было показано цитостатическое действие на модели РЯ *in vitro*.

Работа поддержана РНФ (грант № 23-25-00382).

ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ КЛЕТОК ПЕРВИЧНЫХ КУЛЬТУР УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМЫ

М. В. Жильникова^{1,2}, О. С. Троицкая¹, Д. Д. Новак¹,
В. В. Атаманов^{1,3}, О. А. Коваль^{1,2}

¹ФГБУН «Институт химической биологии
и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск;

²ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский
государственный университет», Новосибирск;

³Новосибирский филиал ФГАУ НМИЦ МНТК
«Микрохирургия глаза», Новосибирск
e-mail: m.zhilnikova@g.nsu.ru

Введение. Увеальная меланома (УМ) – опухоль, развивающаяся из меланоцитов сосудистой оболочки глаза. Молекулярные механизмы, лежащие в основе

онкогенной трансформации меланоцитов сосудистой оболочки глаза, отличаются от таковых для кожных меланоцитов, поэтому их исследование является важной задачей для разработки таргетной противоопухолевой терапии.

Цель исследования — получить и охарактеризовать первичные клеточные культуры увеальной меланомы.

Материалы и методы. Первичные культуры получали из образцов опухолевой ткани путем механической дезагрегации. Анализ поверхностных молекул проводили методом проточной цитометрии, внутриклеточных белков — методом вестерн-блота. Хромосомные перестройки исследовали с помощью GTG-окрашивания метафазных пластинок. Жизнеспособность клеток оценивали с использованием МТТ-теста.

Результаты. Было получено 6 первичных клеточных культур увеальной меланомы. В ходе культивирования отмечено снижение продукции клетками УМ меланина после 7–10-го пассажей. Культивирование клеток УМ в присутствии предшественника меланина L-DOPA повышало продукцию клетками меланина, но в больших концентрациях препарат значительно снижал жизнеспособность меланоцитов.

Во всех культурах подавляющее большинство клеток имели на поверхности молекулы клеточной адгезии Mel-CAM, специфичные для клеток меланомы. При этом клетки всех культур демонстрировали низкий уровень молекул адгезии E-кадгерина и N-кадгерина на клеточной поверхности.

Кариотип клеток отражал характерные для УМ хромосомные перестройки в хромосомах 1, 3, 6 и 8. Было проведено сравнение продукции клетками белка VAP1, мутации в кодирующей последовательности которого распространены среди пациентов с УМ.

Закключение. Таким образом, клетки полученных первичных культур демонстрируют ключевые маркеры клеток УМ и могут рассматриваться как модельный объект для исследования молекулярных особенностей опухолевых меланоцитов и поиска потенциальных мишеней для терапии.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 23-14-00285.

ИНГИБИТОРЫ MDM2 ПОЗВОЛЯЮТ ПРЕОДОЛЕТЬ P-GR-ОПОСРЕДОВАННУЮ ХИМИОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ОПУХОЛЕЙ

А.Д. Зенина, А.А. Романова, А.В. Сагайдак

НИЛ «Молекулярная фармакология» ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)», Санкт-Петербург
e-mail: aleksandrasagaidak@yandex.ru

Ключевые слова: Mdm2, ингибиторы E3-лигазы, P-gr-опосредованная химиорезистентность

Введение. Основным механизмом защиты опухолевых клеток от химиопрепаратов является активность

аденозинтрифосфат-зависимого транспортера P-гликопротеина (P-gr). Он выбрасывает различные препараты из клеток, становясь причиной развития множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) [1]. В данном исследовании для преодоления МЛУ опухолевых клеток предложено использовать проапоптотические таргетные агенты, способные, помимо прямого действия, также подавлять активность P-gr.

Цель исследования — изучить влияние ингибиторов E3-лигазы Mdm2 (нутлин-3а, AMG232, соединения собственной разработки) на жизнеспособность и транспортную активность клеток с P-gr-опосредованной химиорезистентностью.

Материалы и методы. В работе использовали клеточную линию НСТ116, устойчивую к таксолу [2]. Она была получена в результате долгосрочной культивации в присутствии таксола и характеризуется гиперэкспрессией P-gr. Оценку влияния соединений на активность P-gr проводили по накоплению клетками красителей хекста и родамина, которые являются субстратами транспортера. Для получения количественных данных использовались ридер CLARIOstar и система Operetta. Влияние веществ на выживаемость клеток оценивали при помощи МТТ-теста. Для компьютерного моделирования использовали ПО Schrödinger и модель белка PDB ID: 7A65.

Результаты. Присутствие ингибиторов Mdm2 привело к снижению жизнеспособности химиорезистентных клеток, что подтверждалось при совместном использовании препаратов с доксорубицином и таксолом. Показано, что рассматриваемые соединения подавляют выброс красителей из клеток, что свидетельствует об ингибировании P-gr. Компьютерное моделирование подтвердило, что ингибиторы Mdm2 связываются с трансмембранным доменом транспортера, что характерно для известных лигандов P-gr [3].

Закключение. Таким образом, ингибиторы Mdm2 могут использоваться в качестве ингибиторов P-gr для преодоления химиорезистентности опухолей, в том числе для сочетанной терапии с цитостатиками.

Литература

1. Grigoreva T.A., Sagaidak A.V., Novikova D.S., Tribulovich V.G. Implication of ABC transporters in non-proliferative diseases. *Eur J Pharmacol.* 2022;935:175327. DOI: 10.1016/j.ejphar.2022.175327
2. Grigoreva T., Sagaidak A., Vorona S. et al. ATP Mimetic Attack on the Nucleotide-Binding Domain to Overcome ABC Transporter Mediated Chemoresistance. *ACS Medicinal Chemistry Letters.* 2022;13. DOI: 10.1021/acsmchemlett.2c00196
3. Grigoreva T.A., Vorona S.V., Novikova D.S., Tribulovich V.G. Analysis of P-Glycoprotein Transport Cycle Reveals a New Way to Identify Efflux Inhibitors. *ACS Omega.* 2022;7(47):42835–42844. DOI: 10.1021/acsomega.2c04768

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 23-13-00344).

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ N-ГЛИКОЗИДОВ ИНДОЛОКАРБАЗОЛОВ В ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ

Р.Г. Зенков¹, Т.И. Фетисов¹, О.А. Власова¹,
Н.Ю. Карпеченко¹, Л.В. Эктова¹, М.Г. Якубовская¹,
К.И. Кирсанов^{1,2}

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

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов
им. Патриса Лумумбы», Москва
e-mail: r-zenkov@mail.ru

Ключевые слова: ЛХС-1208, ЛХС-1269, противоопухолевая активность, ремоделирование хроматина, эпигенетика, индолокарбазолы, интеркаляция, G-квадруплексы, интерферон

Введение. Индолокарбазолы – это гетероциклические соединения, состоящие из индольного и карбазольного элементов и представляющие интерес как потенциальные противоопухолевые препараты. В НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина синтезированы новые производные индолокарбазолов – группа ЛХС. ЛХС-1208 и ЛХС-1269 показали противоопухолевую активность в отношении ряда перевиваемых опухолей *in vivo* и низкую токсичность в доклинических исследованиях.

Цель исследования – изучить молекулярные механизмы противоопухолевой активности ЛХС-1208 и ЛХС-1269.

Материалы и методы. Влияние веществ на жизнеспособность клеток исследовали с помощью МТТ-теста. Характер связывания с ДНК и константу связывания определяли методом FID (смещения флуоресцентного интеркалятора) и кругового дихроизма в холестерических жидкокристаллических дисперсиях. Ингибирование топоизомераз изучали в реакции релаксации плазмидной ДНК. Эпигенетические эффекты исследовали с помощью проточной цитофлуориметрии, вестерн-блоттинга, полимеразной цепной реакции в реальном времени, иммуноферментного анализа – ELISA – и рестрикционного анализа. Индукцию интерферонового сигналинга изучали методом репортерного анализа и полимеразной цепной реакции в реальном времени. Изменения в транскриптом изучали с помощью наборов PCR Agta.

Результаты. Соединения проявили цитотоксическую активность в отношении опухолевых клеток линий различного гистогенеза. Оба вещества образуют комплексы с ДНК. Интеркалятор ЛХС-1208 ингибирует топоизомеразы I и II α , также он проявляет аффинность к неканоническим структурам – G-квадруплексу промотора сMYC. В тест-системе HeLa TI ЛХС-1269 реактивировал экспрессию эпигенетически репрессированного гена *GFP*. Кроме того, он вызывает ремоделирование хроматина: деплецию гистона H1, увеличение глобального ацетилирования гистона H3, снижение

экспрессии генов гистоновых деацетилаз HDAC1 и HDAC3, снижение уровня интегрального метилирования ДНК. Оба соединения индуцируют интерфероновый сигналинг I типа.

Исследование транскриптома показало, что вещества изменяют экспрессию генов следующих сигнальных путей: PPAR (рецепторы, активирующие пролиферацию пероксисом), NF- κ B (нуклеарный фактор транскрипции), JAK/STAT, TGF- β (трансформирующий ростовой фактор β) и ответа на гипоксию. Кроме того, соединения изменяют экспрессию генов, вовлеченных в ангиогенез, апоптоз, клеточное старение, регуляцию метаболизма, ответ на повреждение ДНК, ответ на условия гипоксии.

Заключение. Обнаружены новые молекулярные механизмы противоопухолевого действия класса производных индолокарбазолов. Несмотря на принадлежность к ребеккамициновому ряду, спектр биологических активностей соединений различен и определяется заместителем у имидного атома азота и углеводным остатком.

НОВЫЕ МОДИФИКАЦИИ ИНГИБИТОРА МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ SMYD3 ДЛЯ ИНДУКЦИИ ГИБЕЛИ КЛЕТОК НЕЙРОБЛАСТОМЫ

Ф.А. Зенов¹, В.А. Василичин¹, А.В. Трубников¹, А.А. Штиль²,
А. Алтиери¹, А.В. Куркин¹

¹ФГБОУ ВО «Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова», Москва;

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава
России, Москва
e-mail: vasilichin.vlad@mail.ru

Ключевые слова: нейробластома, метилтрансфераза SMYD3, синтез

Введение. Метилтрансфераза SMYD3 идентифицирована как новая терапевтическая мишень нейробластомы [1]. Ингибитор-прототип EM127 вызывает гибель клеток нейробластомы в микромолярных концентрациях. Требуется оптимизация структуры EM127 для повышения активности.

Цель исследования – синтезировать аналоги EM127 с использованием каркасных структур в качестве биоизостерических замен аминокиперидинового фрагмента исходной молекулы и исследовать их активность на линиях клеток нейробластомы человека.

Материалы и методы. Дизайн и синтез соединений, изучение гибели клеток.

Результаты. Введение алкильных заместителей в атомы углерода C₁ и C₂ исходного соединения EM127 значительно увеличивает его активность [2]. Следовательно, создание стерической нагруженности в аминокиперидиновом фрагменте перспективно для оптимизации. Первым путем оптимизации EM127 была замена 4-аминокиперидинового фрагмента на каркасные структуры 3-азабицикло[3.3.1]нонан-9-амина

и 8-азабицикло[4.3.1]декан-10-амина, что привело к увеличению цитотоксичности (ЦТ) ~ в 2 раза. Вторым путем являлась замена 4-аминопиперидинового фрагмента на такие каркасы, как 7-азабицикло[2.2.1]гептан-2-амин, 8-азабицикло[3.2.1]октан-3-амин, 2,6-диазаспиро[3.3]гептан. Указанные биоизостерические замены не изменили активность. Таким образом, синтезирована библиотека соединений, отдельные производные проявили улучшенную ЦТ к клеткам нейробластомы по сравнению с прототипом.

Заключение. Ряд каркасных структур из синтезированной библиотеки проявил повышенную ЦТ по сравнению с EM127. Анализ структур показал, что увеличение стерической нагруженности при атомах C₁ и C₂ 4-аминопиперидина усиливает активность, что открывает перспективу для оптимизации EM127.

Литература

1. Parenti M.D., Naldi M., Manoni E. et al. Discovery of the 4-aminopiperidine-based compound EM127 for the site-specific covalent inhibition of SMYD3. *Eur J Med Chem.* 2022;243:114683. DOI: 10.1016/j.ejmech.2022.114683
2. Cheworth and Foley. US Patent No WO 2016/040511 A1 (17 March 2016).

Работа поддержана грантом РФФИ (договор № 20-53-7808 Итал_т).

ОТЛИЧИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К НАРУШЕНИЯМ В СИСТЕМЕ ГЕМОСТАЗА У БОЛЬНЫХ С МИОМОЙ И РАКОМ ТЕЛА МАТКИ

Т.А. Зыкова, Е.А. Шевякова, В.Р. Захарченко, И.В. Каплиева, Е.М. Франциянц

ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону
e-mail: tatiana2904@yandex.ru

Ключевые слова: гемостаз, рак, полиморфизм, ген

Введение. Генетическая природа нарушений в системе гемостаза и их связь с развитием онкозаболеваний продолжает изучаться.

Цель исследования – сравнить частоту носительства полиморфных аллельных вариантов генов системы гемостаза среди больных с миомой матки (ММ) и раком тела матки (РТМ).

Материал и методы. Обследованы 34 женщины с верифицированным РТМ (группа Ia), 16 – ММ (группа Ib) и 47 женщин без онкологической патологии гениталий (группа II). В образцах геномной ДНК методом полимеразной цепной реакции в реальном времени исследовали 8 полиморфных локусов: F2 (*G20210A*, rs1799963), F5 (*G1691A*, rs6025), F7 (*G10976A*, rs6046), F13 (*G103T*, rs5985), FGB G(-455)A (rs1800790), ITGA2-α2 (*C807T*, rs1126643), ITGB3-b (*T1565C*, rs5918), PAI-1 4G(-675)5G (rs1799889). Группы Ia и Ib сравнивали с контролем (p_1), а также между собой (p_2).

Результаты. Равновесию Харди–Вайнберга соответствовало соотношение частот генотипов по всем локусам исследуемых генов. Альтернативный аллель в гене *F2* не был обнаружен ни в одной группе. Частота носительства аллеля риска в гене *F5* среди больных группы Ia составила 1,5 % ($p_2 = 0,02$), Ib – 12,5 % ($p_1 = 0,02$), II группы – 2,1 %; F7 – 13,2; 15,6 и 17,0 %; F13 – 42,6 % ($p_2 = 0,003$), 12,5 % ($p_1 = 0,02$) и 34 %; FGB – 33,8; 28,1 и 25,5 %; ITGA2 – 45,6; 43,8 и 38,3 %; ITGB3 – 19,1; 21,9 и 16,0 %; PAI-1 – 50,0 % ($p_2 = 0,04$), 71,9 и 62,8 % соответственно.

Гетерозигота по локусу F5 (*G1691A*) при ММ встречалась чаще, чем в контроле (25 % vs 4,3 %, $p_1 = 0,015$) и чем при РТМ (25 % vs 2,9 %, $p_2 = 0,015$). По локусу F13 (*G103T*) как гомозигота ТТ (17,6 % vs 0 %, $p_2 = 0,07$), так и гетерозигота (50 % vs 25 %, $p_2 = 0,09$) чаще встречались при РТМ. Гомозигота СС по локусу ITGB3-β (*T1565C*) встречалась только при ММ (12,5 %, $p_1 = 0,014$, $p_2 = 0,035$). Гомозигота 4G4G по локусу PAI-1 4G(-675)5G при РТМ встречалась реже, чем при ММ (20,6 % vs 56,3 %, $p_2 = 0,01$), а гетерозигота – чаще (58,8 % vs 31,3 %, $p_2 = 0,07$).

Заключение. Однофакторный анализ показал, что носительство альтернативного аллеля А и генотипа GA по локусу F5 (*G1691A*), генотипа СС по локусу ITGB3-b (*T1565C*) может увеличивать риск развития ММ. Частота носительства аллелей риска по всем изученным генам при РТМ не отличалась от контроля. Установлены отличия частоты носительства генотипов и аллелей риска генов, отвечающих за состояние свертывающей системы крови, у больных ММ и РТМ. Альтернативный аллель Т в гене *F13* и генотип 5G4G в гене *PAI-1* чаще встречается при РТМ, чем при ММ. Напротив, аллель риска А и генотип GA в гене *F5*, генотип СС по локусу ITGB3-b (*T1565C*) и вариант 4G4G в гене *PAI-1* чаще встречаются при ММ, чем при РТМ.

ПОИСК ЭФФЕКТИВНЫХ КОМБИНАЦИЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ С МИТРАМИЦИНОМ А ДЛЯ ТЕРАПИИ ЛЕЙКОЗОВ И НЕЙРОБЛАСТОМ

К.А. Иваненко, Т.Д. Лебедев, В.С. Прасолов

ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН», Москва
e-mail: karina.ivanenko@mail.ru

Ключевые слова: митрамицин А, противоопухолевые препараты, лейкоз, нейробластома

Введение. Sp1 – фактор транскрипции, который связывает GC-богатые участки регуляторных областей генов. Для ряда злокачественных заболеваний было показано, что подавление транскрипционной активности Sp1 может вызывать гибель опухолевых клеток. Белок Sp1 – регулятор белков семейства Мус,

активность которых связана с развитием лейкозов и агрессивным течением нейробластом. Обе группы плохо поддаются лечению, что требует разработки новых терапевтических подходов. В данной работе мы изучали митрамицин А – антибиотик, который связывает GC-богатые участки промоторов генов. Его рассматривают как ингибитор транскрипционной активности Sp1, однако его применение ограничено из-за высокой токсичности.

Цель исследования – изучить совместное действие митрамицина А и противоопухолевых препаратов для терапии лейкозов и нейробластом.

Материалы и методы. Мы использовали перевиваемые клетки лейкоза человека – HL-60, K562, MV4;11 – и перевиваемые клетки нейробластомы человека – SH-SY5Y, Kelly. Для подавления Sp1 клетки были трансдуцированы лентивирусными частицами, содержащими shRNA против Sp1. Изменение мРНК генов определяли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. Анализ активности митохондрий, лизосом и содержания Fe (II) проводили методом проточной цитометрии (BD, Fortessa) после инкубирования клеток с препаратом в течение 72 ч и окрашивания красителями TMRE, LysoGreen, HMRhoNox. Эффективность комбинаций препаратов была оценена на 6-й день совместного инкубирования с клетками.

Результаты. Экспрессия генов в клетках K562 и SH-SY5Y, обработанных митрамицином А, изменялась не так, как в клетках, в которых Sp1 был подавлен shRNA. Для клеток K562 и MV4;11 мы наблюдали уменьшение активности митохондрий и увеличение активности лизосом и Fe (II) после обработки митрамицином А. Совместное использование митрамицина А и иматиниба, дазатиниба, бозутиниба, кризотиниба синергически снижает пролиферацию клеток лейкоза K562 и нейробластомы SH-SY5Y.

Закключение. Митрамицин А усиливает цитотоксическое действие ингибиторов киназ в отношении клеток хронического миелоидного лейкоза K562 и нейробластомы SH-SY5Y, что может быть использовано для разработки нового эффективного терапевтического подхода для лечения.

ФАРМАКОФОРНЫЙ СКРИНИНГ КОМПОНЕНТОВ ЭФИРНОГО МАСЛА ДЯГИЛЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО (*ANGELICA ARCHANGELICA L.*) КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ РАЗВИТИЯ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Н.В. Иванов

ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия им. К.А. Тимирязева», Москва
e-mail: nikolay.ivanov.research@gmail.com

Ключевые слова: эфирные масла, дягиль лекарственный, *Angelica archangelica L.*, гомологичное моделирование, молекулярный докинг

Введение. По данным Всемирной организации здравоохранения, наиболее распространенным в мире видом онкологических заболеваний является рак молочной железы (РМЖ). Именно поэтому существует необходимость поиска новых видов биологических препаратов, которые смогут ингибировать развитие данного типа опухолей. Известен антиоксидантный, противогрибковый, противовоспалительный и антибактериальный эффект применения компонентов эфирного масла дягиля лекарственного (*Angelica archangelica L.*). Однако представляется недостаточной информация о молекулярных механизмах взаимодействия данных компонентов с молекулами РМЖ.

Цель исследования – изучение молекулярных механизмов взаимодействия некоторых компонентов эфирного масла дягиля лекарственного как потенциальных ингибиторов развития РМЖ.

Материалы и методы. Объектами исследования служили трехмерные структуры компонентов эфирного масла дягиля лекарственного и трехмерная структура рецептор-связывающего антигена, экспрессируемого на клетках SiSo (RCAS1), полученная методом гомологичного моделирования. Скрининг механизмов взаимодействия проведен с использованием метода молекулярного докинга (программное обеспечение AutoDock Vina. Визуализация молекулярных взаимодействий компонентов эфирного масла дягиля лекарственного и RCAS1 проведена с использованием ПО Protein.Plus.

Результаты. Проведен первичный скрининг компонентов эфирного масла дягиля лекарственного (*Angelica archangelica L.*). Установлено наличие ван-дерваальсового взаимодействия между гермакреном и RCAS1 с аминокислотным остатком Arg174. Показано, что показатель сродства между изучаемыми структурами составил –10,2 Ккал/моль.

Закключение. Таким образом, в рамках проведенного в условиях *in silico* исследования молекулярного взаимодействия компонентов эфирного масла дягиля лекарственного можно сделать вывод об умеренном взаимодействии гермакрена и молекулы RCAS1. Возможный потенциал действия гермакрена как ингибитора RCAS1 требует дальнейшего изучения в условиях *in vitro*.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ СИСТЕМЫ ГОМОЛОГИЧНОЙ РЕКОМБИНАЦИИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А.А. Карчевская^{1,2}, С.С. Сороковикова^{1,3},
М.К. Ибрагимова^{1,2}, М.М. Цыганов^{1,2}

¹НИИ онкологии — филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск;
²ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск;
³ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск
e-mail: 205212mafri@gmail.com

Ключевые слова: однонуклеотидные полиморфизмы генов, система гомологичной рекомбинации, рак молочной железы

Введение. Было показано, что в формировании дефицита гомологичной рекомбинации (ГР) участвуют не только герминальные мутации в гене *BRCA1*, но и нарушения в других основных генах, участвующих в этом процессе. В связи с этим интересным является изучение механизмов регуляции экспрессии данных генов и их влияния на эффект химиотерапии (ХТ) и прогноз заболевания у больных раком молочной железы (РМЖ). Одним из механизмов регуляции являются однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП).

Цель исследования — оценка однонуклеотидных полиморфизмов генов ГР при РМЖ и их терапевтического потенциала.

Материалы и методы. В работу включены 137 больных РМЖ. Все больные получали 6–8 курсов неоадьювантной ХТ. ДНК выделяли при помощи набора QIAamp DNA Mini Kit. Микроматричное исследование было использовано для оценки полиморфизмов генов ГР.

Результаты. Проанализировано 490 полиморфизмов 16 генов ГР. Установлено влияние на эффект ХТ 24 полиморфизмов 7 генов: *PARP1*, *BARD1*, *CHEK1*, *CHEK2*, *RAD51L*, *PALB2*, *BRCA1*. Наличие мутантных генотипов статистически значимо ($p < 0,01$) сопряжено с низким уровнем экспрессии данных генов. Минорный генотип определяет высокую частоту полных и частичных регрессий опухоли (от 70 до 94 %). У пациентов с наличием мутантного генотипа полиморфизмов *PARP1* rs3219073, rs1073991 и rs3219027 наблюдается 100 % частота объективного ответа на лечение ($p = 0,004$). Статистически значимое влияние на показатели безметастатической выживаемости у больных РМЖ оказывают ОНП *RAD51L* rs12410307, *BARD1* rs34553657, *CHEK1* rs540436, *BRCA2* rs4942448 и rs11571725, *PALB2* rs420259, rs76402776, *BRCA1* rs4793197 и rs8176126, *CHEK2* rs5752773, rs1033667, rs2017309 и другие, при log-rank test $0,05 > p > 0,0002$, а также совокупное влияние полиморфизмов *BRCA1* rs8176297 и *PARP1* rs3219090, у этих пациентов наблюдается 100 % пока-

затели выживаемости против 56,5 % в группе с диким генотипом (log-rank test $p = 0,03$).

Заключение. Таким образом, были установлены новые полиморфизмы генов ГР, оказывающие влияние на их экспрессию, эффект ХТ и прогноз заболевания, что может дать дополнительные сведения о механизмах регуляции и формировании дефицита ГР.

Работа поддержана грантом РНФ № 22-15-00169.

СКРИНИНГ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ГРИБОВ, ИНГИБИРУЮЩИХ ОНКОАССОЦИИРОВАННЫЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ

Ю.Н. Кирдеева, А.А. Дакс, Н.А. Барлев, О.Ю. Шувалов
ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург
e-mail: yulia.kirdeeva@yandex.ru

Ключевые слова: низкомолекулярные соединения грибов, клеточные модели, карцинома, противоопухолевая терапия

Введение. В последнее время в научной литературе тема применения лекарственных грибов в противоопухолевой терапии приобрела особую актуальность. Например, такие известные виды лекарственных грибов, как шиитакэ (*Lentinula edodes*), рейши (*Ganoderma lucidum*), кордицепс (*Cordyceps militaris*), ежовик гребенчатый (*Hericium erinaceus*) и агарикус (*Agaricus albus*), используются в традиционной и официальной медицине Китая и Японии. Основные противоопухолевые свойства грибов связывают с наличием в них полисахаридов и низкомолекулярных соединений, в первую очередь терпеноидов и полифенолов. В то время как противоопухолевая активность полисахаридов ассоциирована с воздействием на иммунную систему организма, молекулярные механизмы, опосредующие противоопухолевые эффекты низкомолекулярных соединений, остаются крайне малоизученными.

Цель исследования — изучение противоопухолевых свойств ряда низкомолекулярных соединений грибов в клеточных моделях карциномы легкого человека.

Материалы и методы. На основе литературных данных мы отобрали 5 низкомолекулярных соединений, выделенных из лекарственных грибов и обладающих набором полезных фармакологических свойств: гиспидин, гисполон, кордицепин, ганодеровая кислота и траметоноловая кислота. Мы провели их скрининг на цитотоксичность (МТТ-анализ), по результатам которого для дальнейших анализов нами были отображены гисполон, кордицепин и траметоноловая кислота. Мы изучили их влияние на клеточный цикл, апоптоз (проточная цитометрия) и энергетический метаболизм опухолевых клеток (полимеразной цепной реакции в реальном времени, иммуноблоттинг, технология Seahorse).

Результаты. Согласно результатам скрининга на цитотоксичность, кордицепин, гисполон и траметоноловая кислота оказались самыми эффективными веществами, ингибирующими рост раковых клеток. Они вызывали изменения в клеточном цикле и апоптоз. Кроме того, данные вещества подавляли экспрессию ряда ферментов гликолиза (LDHA, HK2) и одноуглеродного метаболизма (PSAT1, PSPH, PHGDH, SHMT2), а также их важнейших транскрипционных регуляторов – с-Мус и ATF4. С использованием технологии SeaHorse было показано ингибирующее влияние на энергетический метаболизм.

Заключение. Показаны противоопухолевые свойства 3 низкомолекулярных грибных соединений: гисполон, кордицепина и траметоноловой кислоты – и их ингибирующее влияние на онкоассоциированные метаболические процессы.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 21-75-10138.

ИЗУЧЕНИЕ НОВОГО СЕМЕЙСТВА ГЕТЕРОМЕТАЛЛИЧЕСКИХ КООРДИНАЦИОННЫХ СОЕДИНЕНИЙ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

О.Г. Ковтун^{1,2}, Н.А. Королева^{1,2}, А.В. Гавриков²,
М.В. Кирпиченко¹, А.А. Лушникова¹

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

²ФГБУН «Институт общей и неорганической химии
им. Н.С. Курнакова РАН», Москва
e-mail: miss.olga.kovtun@gmail.com

Ключевые слова: гетерометаллические координационные соединения, цитотоксичность, аквапорины, злокачественные опухоли

Введение. Разработка новых противоопухолевых препаратов с высокой цитотоксичностью (ЦТ) в отношении раковых клеток (Кл) – актуальная и перспективная задача. Мы впервые проанализировали возможные механизмы избирательной ЦТ оригинальных гетерометаллических координационных соединений (ГКС), содержащих катионы d-металлов.

Цель исследования – характеристика ЦТ группы ГКС с использованием клеточных линий, полученных из опухолей различной локализации, для определения мишеней ГКС и молекулярных механизмов ЦТ.

Материалы и методы. Панель клеточных линий рака молочной железы (HBL-100 и HBL-100/Dox), гастроинтестинальной опухоли желудочно-кишечного тракта (GIST/T1 naïve и GIST/T1 IMR), глиобластомы (T98G и U87), меланомы кожи (Mel Cher и Mel IS), рака почки (Рпоч 1-КК) и 12 ГКС типа [M(phen)₃] [Y(NO₃)₅] и [M(bpy)₃] [Y(NO₃)₅], где M = Zn²⁺, Co²⁺, Ni²⁺, phen = C₁₂H₈N₂ (1,10-фенантролин), bpy = C₁₀H₈N₂ (2,2'-бипиррил). Для оценки выживаемости опухолевых и нормальных Кл использовали МТТ-тест; для биоинфор-

матического анализа – протокол Rosetta Ligand/Rosetta Online Server.

Результаты. Обнаружена высокая ЦТ 7/12 тестируемых ГКС в отношении опухолевых клеток, вплоть до 18,5 % (IC₅₀ = 2 мкг/мл). Выживаемость фибробластов снизилась до 85 %. ЦТ ГКС типа [M(phen)₃] [Y(NO₃)₅] – на 15–18 % выше, чем у ГКС с формулой [M(bpy)₃] [Y(NO₃)₅]. ЦТ ГКС, содержащих Zn²⁺, выше, чем с Co²⁺ или Ni²⁺. На основании имеющихся данных мы предположили, что основной механизм ЦТ ГКС связан с ингибированием семейства интегральных мембранных белков-аквапоринов – AQP, обеспечивающих водно-солевой и энергетический баланс и гиперэкспрессированных в активно пролиферирующих опухолевых Кл. Биоинформатический анализ подтвердил наличие межмолекулярных взаимодействий между ГКС и белками семейства AQP, с оценкой взаимодействия (scores) = –20 ккал/моль. Это указывает на образование энергетически стабильных межмолекулярных комплексов путем множества водородных связей. Ингибирование ряда AQP приводит к нарушению регуляции активированных сигнальных путей EGFR-PI3K-AKT-mTOR; EGFR-RAS-RAF, митоптозу и ядрышковому стрессу (ЯС) с последующей гибелью опухолевых Кл во всех изученных модельных линиях, что подтверждает ИГХ-анализ с использованием флуоресцентно меченных маркеров ЯС NPM и p21.

Заключение. ГКС, содержащие Zn²⁺, Co²⁺, Ni²⁺, представляют интерес как соединения, токсичные для опухолевых Кл, индуцирующие их гибель путем неспецифичных взаимосвязанных механизмов, требующих дальнейшего изучения.

РОЛЬ МОЛЕКУЛЯРНО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НА СИСТЕМНОМ И ЛОКАЛЬНОМ УРОВНЯХ В ПРОЦЕССЕ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ ЦЕРВИКАЛЬНЫХ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ НЕОПЛАЗИЙ, ПРЕИНВАЗИВНОГО И МИКРОИНВАЗИВНОГО РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

П.И. Ковчур^{1,2}, О.В. Курмышкина¹, О.И. Ковчур¹,
И.В. Хидишан², Т.О. Волкова¹

¹ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», Петрозаводск

²ГБУЗ Республики Карелия «Республиканский онкологический диспансер», Петрозаводск
e-mail: pkovchur@mail.ru

Ключевые слова: предрак шейки матки, вирус папилломы человека, иммунотерапия

Введение. Своевременная диагностика и комплексное лечение цервикальной неоплазии (CIN1–2, CIN2, CIN3), преинвазивного (сг *in situ*) и микроинвазивного рака шейки матки (IA₁ РШМ) есть реальная вторичная профилактика рака шейки матки.

Цель исследования – оценить влияние иммунотерапии при лечении CIN1–2, CIN2, CIN3/*cr in situ* и IA₁ РШМ с оценкой молекулярно-иммунологических показателей, выделенных из образцов опухолевой ткани и периферической крови пациенток.

Материалы и методы. Проведено молекулярно-иммунологическое обследование в 3 группах: 1-я ($n = 145$) – с осложненным эктропионом, кондиломатозом и лейкоплакиями шейки матки с вирусом папилломы человека (ВПЧ) ($n = 63$) и без ВПЧ ($n = 82$); 2-я группа ($n = 32$) – с CIN1–2, CIN2 с ВПЧ в 90,6 % (29) случаев; 3-я группа ($n = 120$) – с CIN3 ($n = 75$) и IA₁ ($n = 45$) РШМ (ДНК ВПЧ в 90,4 и 96,7 %). Всем пациентам с ВПЧ 3 групп проводилось хирургическое лечение, 2-м этапом – курс гистидил-глицил-валил-серил-глицил-гистидил-глицил-глутаминил-гистидил-глицил-валил-гистидил-глицин («Аллокина-альфа») по 1,0 мг 6 раз через день подкожно. Молекулярно-иммунологические показатели сравнивали с аналогичными показателями здоровых женщин ($n = 30$), выполненных на проточном цитометре MACSQuant Analyzer (Miltenyi Biotec, Германия), в том числе экспрессию PD1, TIM3 и LAG3 маркеров в общей популяции CD3⁺CD8⁺ Т-лимфоцитов, характеризующих дисфункциональные Т-клетки при развитии РШМ.

Результаты. В 1-й группе ($n = 145$) у женщин в подгруппе с ВПЧ ($n = 63$) эффективность комплексного лечения с иммунотерапией составила 96,8 % (61 пациентка) через 3 мес. В 3,2 % случаев отмечен ВПЧ ($<21 \text{ g} \times 10^5$). В подгруппе без ВПЧ ($n = 82$) эффективность лазеролечения без иммунотерапии составила 85,4 %, с ВПЧ – 14,6 % ($>21 \text{ g} \times 10^5$). Во 2-й группе ($n = 32$) у пациенток с CIN1–2, CIN2 с ВПЧ ($n = 29$) после комплексного лечения эффективность составляла 93,1 %. В 3-й группе с ВПЧ ($n = 120$) после комплексного лечения отмечена эффективная нормализация Т-хелперов, Tregs, уровня экспрессии CD95-маркера, TGF- β 1, FOXP3, уровня активности каспаз -8, -9, -3, -6 в циркулирующих лимфоцитах ($p < 0,01$), онкобелок E7 обнаружен в 1,7 % ($<21 \text{ g} \times 10^5$). В данной группе только хирургическое лечение проведено 8 (26,7 %) пациентам с ВПЧ ($>21 \text{ g} \times 10^5$), у 4 (13,3 %) человек выявлен онкобелок E7.

Заключение. Полученные результаты обосновывают необходимость проведения комплексного изучения иммунного, воспалительного и ангиогенного профиля опухоли при разработке и прогнозировании эффективности стратегий комбинированной терапии пре- и микроинвазивного РШМ.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИПА КЛЕТЧНОГО ОТВЕТА НА КОМБИНАЦИИ КЛАССИЧЕСКОЙ ХИМИОТЕРАПИИ И НОВЫХ ТАРГЕТНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Е.Д. Колосова¹, О.Н. Демидов^{1,2}, Д.А. Богданова^{1,2}

¹ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург;
²АНО ВО «Научно-технологический университет «Сириус»,
г.м. Сириус
e-mail: katunehka_1@mail.ru

Ключевые слова: HT-29, MC-38, противоопухолевые препараты, комбинации противоопухолевых препаратов, клеточный ответ

Введение. Онкологические заболевания являются одними из наиболее летальных заболеваний в мире. Лечение рака является сложным и дорогостоящим, поэтому испытание новых лекарственных препаратов и их комбинаций для лечения всех видов рака имеет большое значение. Новые препараты и их комбинации могут привести к повышению эффективности терапии, кроме того, они могут уменьшить побочные эффекты традиционных методов лечения.

Устойчивость опухолевых клеток к лекарственным препаратам возникает из-за мутаций или изменения активности генов. В последнее время стало понятно, что для излечения или обеспечения длительного подавления опухоли важно активировать иммунную систему. Оказалось, что не все методы используемой терапии активируют иммунную систему одинаково, и связано это с тем, что у опухолевой клетки возникает разный клеточный ответ на то или иное лекарство.

Цель исследования – изучить ответ опухолевых клеток на противоопухолевые препараты и их комбинации.

Материалы и методы. В качестве опухолевых клеток выбраны линии колоректального рака человека (HT-29) и мыши (MC-38). На данных линиях произведено тестирование различных препаратов (Cytarabine, GSK2830371, Venetoclax) и их комбинаций с целью выявления наиболее эффективного сочетания лекарств для стимулирования иммунной системы. Были также созданы клеточные линии с репортерными плазмидами для определения основных типов клеточного ответа на противоопухолевую терапию: апоптоз, некроптоз, сенесенс. Визуализация полученных результатов производилась с помощью конфокальной микроскопии и системы прижизненной визуализации клеток IncuCyte S3. Дополнительно действие препаратов и тип клеточного ответа оценивали с помощью методов количественной полимеразной цепной реакции, гистохимического окрашивания на сенесенс-ассоциированную β -галактозидазу, вестерн-блоттинга на сенесенс-ассоциированные ингибиторы клеточного цикла INK4A и Waf1.

Результаты. В ходе экспериментов было выявлено, что комбинации нетоксичных для нормальных клеток препаратов с химиотерапевтическими имеют большую

эффективность, чем монотерапия, и позволяют снизить дозы высокотоксичных химиотерапевтических препаратов. Репортерные системы на апоптоз и сене-сенс показали диагностическую значимость при определении типа ответа на противоопухолевую терапию.

Заключение. В дальнейшем планируется применить отработанную на клеточных линиях стратегию тестирования новых комбинаций противоопухолевых соединений на PDX-моделях острого миелоидного лейкоза, так как данное заболевание является одним из самых тяжелых форм онкологических заболеваний, обладает высокой устойчивостью к терапии и характеризуется частыми рецидивами.

Исследование поддержано грантом РФФ № 19-75-20128.

Работа частично осуществлялась в рамках программы «Большие вызовы».

Благодарность участникам команды «Следствие вели».

ПРОИЗВОДНОЕ УСНИНОВОЙ КИСЛОТЫ (ИНГИБИТОР ТИРОЗИЛ-ДНК- ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ 1) УСИЛИВАЕТ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ЭФФЕКТ ТОПОТЕКАНА *IN VIVO*

Т.Е. Корниенко¹, А.Л. Захаренко¹, В.П. Николин²,
Н.А. Попова², А.С. Филимонов³, О.А. Лузина³,
Н.Ф. Салахутдинов³, О.И. Лаврик¹

¹ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск;

²ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск;

³ФГБУН «Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН», Новосибирск
e-mail: t.kornienko1995@gmail.com

Ключевые слова: репарация ДНК, ингибиторы ферментов репарации ДНК, тирозил-ДНК-фосфодиэстераза 1, топотекан, усниновая кислота, лимфосаркома мышей RLS

Введение. Топотекан – цитостатический противоопухолевый препарат, применяемый в клинике для лечения рака шейки матки, яичников и мелкоклеточного рака легкого. Фармакологическое действие топотекана основано на стабилизации комплексов топоизомеразы 1-ДНК (Top1-ДНК), что приводит к накоплению повреждений ДНК и дальнейшей гибели опухолевой клетки. Тирозил-ДНК-фосфодиэстераза 1 (Tdp1) – фермент репарации ДНК, удаляющий различные ковалентные аддукты с 3'-конца ДНК. В частности, Tdp1 нейтрализует действие топотекана. Таким образом, применение ингибиторов Tdp1 в качестве вспомогательной терапии является многообещающей стратегией при лечении онкологических заболеваний.

Цель исследования – изучение способности производного усниновой кислоты – ингибитора Tdp1 –

усиливать действие топотекана в отношении модели опухоли лимфосаркомы RLS *in vivo*.

Материалы и методы. В исследовании использованы мыши линии СВА. Экспериментальной моделью опухоли служила лекарственно-устойчивая лимфосаркома RLS. Животные были разделены случайным образом на 8 групп: 1-я группа – контроль без лечения; 2-я группа – контроль растворителя внутрижелудочно; 3-я группа – топотекан 1 мг/кг внутривентриально; 4-я группа – топотекан 1 мг/кг + ОЛ9–116 внутрижелудочно; 5-я группа – топотекан 1 мг/кг + ОЛ9–116 внутривентриально; 6-я группа – ОЛ9–116 150 мг/кг внутрижелудочно; 7-я группа – ОЛ9–116 50 мг/кг внутривентриально; 8-я группа – контроль растворителя внутривентриально. Параметрами эффекта являлись масса, объем опухоли, влияние на гемопоэз, масса и органные индексы печени/селезенки.

Результаты. Более эффективной в отношении размера и веса опухолевого узла оказалась комбинация топотекана с ОЛ9–116 50 мг/кг, введенного внутривентриально, по сравнению с остальными группами. Комбинированное применение топотекана и ОЛ9–116 указанным способом также приводит к нормализации гемопоэза по сравнению с комбинированным введением этих препаратов внутрижелудочно в большей дозе и с введением препаратов по отдельности.

Заключение. Производное усниновой кислоты ОЛ9–116 может являться перспективным дополнением к основной терапии онкологических заболеваний топотеканом. Комбинация топотекана и ОЛ9–116 нетоксична, обладает противоопухолевой активностью и нормализует гемопоэз.

Исследование поддержано грантом РФФ № 21-14-00105.

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ТЕРАПИИ ГЛИОБЛАСТОМ С ПРИМЕНЕНИЕМ КАТИОННЫХ ПЕПТИДОВ

Н.А. Королева¹, О.Г. Ковтун¹, А.А. Рудакова¹,
М.В. Кирпиченко¹, С.М. Андреев², А.А. Лушникова¹

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

²ФГБУ ГИЦ «Институт иммунологии» ФМБА России, Москва

e-mail: nat.korole@yandex.ru

Ключевые слова: цитотоксичность, катионные пептиды, глиобластома

Введение. Глиобластомы (ГБ) – агрессивные злокачественные опухоли центральной нервной системы с поздней манифестацией и высокой вероятностью приобретения резистентности. Ранее мы изучили цитотоксичность (ЦТ) ряда катионных пептидов (КП) в отношении первичных культур мультиформной ГБ. Эти КП устойчивы к биодegradации, обладают селективной ЦТ, перспективны для противоопухолевой

терапии и внутриклеточного транспорта биомолекул в виде комплексов КП-аптамер, КП-химиопрепарат.

Цель исследования – анализ молекулярных механизмов ЦТ КП на расширенной панели стабильных клеточных линий и первичных культур ГБ человека.

Материалы и методы. Линии ГБ T98G и U87, 2 первичные культуры с мутациями генов *PTEN*, *TP53*, *MRE11* (#13) и *PTEN*, *TP53*, *MRE11*, *FOXL2* и *EGFR* (#27), контроль – человеческие фибробласты линии РВК. ЦТ 7 КП и их предполагаемые мишени анализировали в МТТ-тестах и с помощью ИГХ-окрашивания клеток, вестерн-блоттинга, проточной цитометрии и программ для биоинформатического анализа по протоколам Rosetta Ligand/Rosetta Online Server, Maestro 11, MatLab 6.0.

Результаты. Высокая избирательная ЦТ тестируемых КП для опухолевых клеток обусловлена в основном апоптозом (независимо от мутационного статуса *TP53*), путем ядрышкового стресса с участием гиперэкспрессированных шаперонных белков NCL и NPM. Данные белки – основной компонент ядрышек, а молекулы рецепторного NCL гиперэкспрессированы также и на поверхности опухолевых клеток. Они регулируют ключевые клеточные функции и рассматриваются как мишени для КП. В фибробластах экспрессия NCL и NPM ниже и минимальна – на клеточной поверхности (25,60 vs 1,75 усл. ед.). Компьютерное моделирование взаимодействий NCL и NPM с 3 дендримерными КП путем попарного молекулярного докинга показало высокие оценочные функции (до 10 по модулю) за счет формирования донорно-акцепторных связей между аминокислотами лиганда и белка. Это подтверждено иммунопреципитацией, а также ИГХ с мечеными белками и КП, показавшей их совместную локализацию вследствие взаимодействия лигандов (КП) с их основными мишенями – NCL и NPM. В результате ингибируются активности NCL/NPM и регулируемые ими клеточные функции. Выживаемость опухолевых клеток после 3-суточной инкубации с КП (0,5–4,0 мкг/мл) по сравнению с контролем (85–98 %) снижена до 15–23 %, а клеток в первичных культурах с мутациями в генах-супрессорах – до 30 %.

Заключение. Дендримерные КП индуцируют апоптоз клеток ГБ и малотоксичны для нетрансформированных клеток; они перспективны для терапии ГБ.

СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ АНГИОГЕНЕЗА И НОРМАЛИЗАЦИЯ СОСУДИСТОЙ СЕТИ КАК МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Е.В. Короткова, А.И. Борисов

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова»
Минздрава России, Санкт-Петербург
e-mail: jel.korotkova@gmail.com

Ключевые слова: ангиогенез, сосудистая сеть, эндотелиальный фактор роста сосудов, антиангиогенная терапия

Введение. В многоклеточном организме ангиогенез необходим для обеспечения роста, развития и регенерации тканей, но данный процесс также играет решающую роль в опухолевой прогрессии. Несмотря на активные исследования, ведущиеся в данной области, клиническая эффективность разработанной на настоящий момент таргетной антиангиогенной терапии ограничена ввиду возникновения побочных эффектов, приобретенной лекарственной устойчивости и рецидивов. Данные обстоятельства требуют дальнейших исследований механизмов опухоль-ассоциированного ангиогенеза.

Цель исследования – на основе литературных данных оценить эффективность нормализации васкулатуры как метода патогенетической терапии.

Материалы и методы. Методологическим основанием исследования является анализ подходов к роли патологического ангиогенеза в опухолевом росте и оценка значимости «нормализации» сосудистой сети с применением антиангиогенных препаратов.

Результаты. Ангиогенез, ассоциированный с опухолевым ростом, представляет собой образование новых сосудов, необходимых для обслуживания растущей массы опухоли; данный процесс протекает избыточно, нерегулируемо. Это обусловлено особенностями метаболических процессов, протекающих в опухолевых клетках, потребляющих неадекватно большое количество ресурсов и находящиеся в условиях гипоксии, ацидоза и нутритивного дефицита. Сниженное парциальное давление кислорода при этом подавляет активность доменов гипоксией индуцируемых факторов транскрипции (hypoxia-inducible transcription factor, HIF), функционирующих как «кислородные сенсоры», что приводит к активации транскрипции генов, ассоциированных с гипоксией и управляемых HIF. В группу данных генов также входит ген фактора роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF). Избыточная и нерегулируемая экспрессия этого фактора обуславливает формирование атипичной васкулатуры. Анти-VEGF-терапия способствует ее «нормализации» и формированию более «зрелой» сосудистой сети, которая неадекватна метаболическим «запросам» опухоли, что приводит к ее регрессии,

но вместе с тем анти-VEGF-монотерапия неэффективна: необходимо применение антиопухолевой терапии, при этом в такой комбинации улучшается доставка химиопрепаратов и повышается эффективность лучевой терапии.

Заключение. Установлено, что необходимость комбинированной терапии также определяется так называемой васкулогенной мимикрией опухолевых клеток, которые имитируют сосудистые структуры и не подвержены действию анти-VEGF-препаратов. Тем не менее анти-VEGF-препараты влияют и на здоровые ткани, обуславливая развитие побочного действия, поэтому необходим поиск возможных мишеней для щадящей здоровые ткани антиангиогенной терапии.

ИЗМЕНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ЛАНДШАФТА ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОД ДЕЙСТВИЕМ АНТРАЦИКЛИН- СОДЕРЖАЩИХ СХЕМ НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

Е. А. Кравцова, Н. В. Литвяков, М. К. Ибрагимова

НИИ онкологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный
исследовательский медицинский центр РАН», Томск
e-mail: zdereva.e@gmail.com

Ключевые слова: неоадъювантная химиотерапия, рак молочной железы, статус гематогенного метастазирования

Цель исследования – изучить изменение CNA-генетического ландшафта опухоли молочной железы при применении антрациклин-содержащих схем неоадъювантной химиотерапии (НХТ) в зависимости от статуса гематогенного метастазирования.

Материалы и методы. В исследование включены 35 больных люминальным В HER2⁻ раком молочной железы (РМЖ) IА–IIIВ стадий. Все пациентки получали 4–8 курсов НХТ по схемам FAC/AC, CAH. Для анализа CNA проводили микроматричный анализ (Affymetrix (USA) CytoScan™ HD Array).

Результаты. Проведен анализ распределения частот CNA в группах пациенток до и после лечения в зависимости от наличия гематогенного метастазирования. В исследуемой группе у 13 пациенток (37,1 %) зарегистрировано возникновение гематогенного метастазирования (среднее время $45,7 \pm 0,4$ мес [min-max: 4–130]).

В результате сравнения частот встречаемости CNA в группе пациенток до лечения показано, что возникновение гематогенного метастазирования наблюдалось при большем количестве амплификаций в 18q11.2, 18q12.1 и 18q12.2 регионах, в частности у 23,0 % пациенток с наличием гематогенного метастазирования идентифицирована амплификация данных регионов при полном отсутствии амплификаций в них в группе пациенток без гематогенного метастазирования ($p = 0,035$).

В результате сравнения частот встречаемости CNA после лечения выяснили, что возникновение гематогенного метастазирования наблюдалось при большем количестве амплификаций в 9p22.2 регионе (0 % до лечения/38,5 % после НХТ) ($p = 0,00229$). Установлено также, что возникновение гематогенного метастазирования наблюдалось при большем количестве делеций в 9p21.3 регионе (0 % до лечения/23,1 % после НХТ) ($p = 0,053$). Потенциально данные локусы могут выступать в качестве прогностического маркера возникновения гематогенного метастазирования у больных люминальным В подтипом РМЖ при назначении антрациклин-содержащих схем НХТ.

Заключение. Выявлены потенциальные прогностические маркеры возникновения гематогенного метастазирования для люминального В HER2⁻ РМЖ при применении антрациклин-содержащих схем в режиме НХТ.

Работа выполнена при поддержке РФФ
(грант № 22-25-00499).

ИЗУЧЕНИЕ АНТИПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ НАНОРАЗМЕРНЫХ ФОРМ ПАКЛИТАКСЕЛА НА ОСНОВЕ КАЗЕИНАТА НАТРИЯ НА ЛИНИЯХ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ 4T1 И MCF7

Е. Н. Красносельская¹, С. А. Бойко¹, А. М. Щербаков^{2,3},
Ф. Б. Богданов^{2,4}, Н. С. Осипова¹, Д. И. Сальникова²,
Т. С. Ковшова¹

¹ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический
университет им. Д. И. Менделеева», Москва;

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава
России, Москва;

³ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский
Нижегородский государственный университет
им. Н. И. Лобачевского», Нижний Новгород;

⁴ФГБОУ ВО «Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова», Москва
e-mail: krasnoselskaya99@mail.ru

Ключевые слова: антипролиферативная активность, наночастицы, паклитаксел, рак молочной железы, казеин

Введение. Рак молочной железы (РМЖ) является основной причиной смертности у женщин от онкологических заболеваний. Паклитаксел (РТХ) – широко применяющийся химиотерапевтический агент, но лечение им осложняется серьезными побочными эффектами ввиду содержания в составе лекарственных форм токсичных соразтворителей (Stromphor® ELP). Лекарственные препараты РТХ на основе наноразмерных носителей проявили преимущества по сравнению с традиционными формами при лечении РМЖ. Казеин – перспективный носитель белковой природы, он более экономически доступен в сравнении с человеческим сывороточным альбумином,

применяемым в производстве нанодисперсных форм РТХ (AbraXane®).

Цель исследования – разработка наноразмерных форм РТХ на основе казеината натрия (CasNa) и оценка их антипролиферативной активности на линиях клеток РМЖ 4Т1 и МСF7.

Материалы и методы. Для получения наночастиц РТХ использовали метод гомогенизации под давлением с последующим удалением органического растворителя. Раствор РТХ (хлороформ и 95 % этанол 11:1 об./об.) гомогенизировали с 0,5 % раствором CasNa в воде. Далее хлороформ удаляли под вакуумом, а затем суспензию отмывали тангенциальной фильтрацией (РТХ–CasNa) либо диализом против 0,5 М раствора хлорида кальция (РТХ–CasNaCa) для стабилизации, фильтровали (0,45 мкм) и лиофилизировали. Физико-химические параметры оценивали методом динамического лазерного светорассеяния. Сравнительную оценку антипролиферативной активности наночастиц РТХ и AbraXane® проводили с помощью МТТ-теста (72 ч инкубации с лекарственными формами) на линиях клеток РМЖ мыши 4Т1 и человека МСF7.

Результаты. Мицеллярные формы РТХ имели средний размер частиц <200 нм, ζ-потенциал поверхности –30 мВ и узкое распределение по размерам. Мицеллы обладали значительной антипролиферативной активностью в отношении клеток 4Т1 и МСF7. РТХ–CasNa и РТХ–CasNaCa оказывали ингибирующее воздействие на рост клеток в наномолярных концентрациях и были активнее субстанции РТХ. Значения IC₅₀ для наночастиц РТХ в отношении опухолевых клеток не превышали 100 нМ и были сравнимы со значениями IC₅₀, характерными для наночастиц РТХ на основе альбумина (AbraXane®).

Заключение. Полученные результаты подтверждают перспективность дальнейшего исследования наночастиц РТХ на основе казеината натрия для терапии РМЖ.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках государственного задания (проект FSSM-2022-0003).

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ХОЛОДНОЙ ПЛАЗМЕННОЙ СТРУИ КАК ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ПОДАВЛЕНИЯ МЕЛАНОМЫ В16 *IN VIVO*

Н.В. Крячкова¹⁻³, А.А. Полякова¹⁻³, М.М. Бирюков¹⁻³,
О.С. Троицкая², Д.Д. Новак², Е.В. Милахина³,
Д.Э. Закревский³, И.В. Швейгер³, О.А. Коваль¹⁻³

¹ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск;

²ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск;

³ФГБУН «Институт теоретической и прикладной механики им. С.А. Христиановича СО РАН», Новосибирск
e-mail: krychkovav@rambler.ru

Ключевые слова: меланома кожи В16, противоопухолевое воздействие, термическая безопасность, холодная плазменная струя

Введение. Меланома кожи является агрессивной онкологической патологией, приводящей к более 2 тыс. летальных случаев ежегодно. Клетки меланомы быстро приобретают устойчивость, поэтому актуальным является поиск новых методов лечения. Холодная плазменная струя (ХПС) представляет собой частично ионизированный газ или смесь газов, несущих электроны, протоны, нейтроны и активные формы кислорода и азота. Главной особенностью холодной плазмы является отсутствие нагрева биологической мишени выше 40°C. Дополнительно снижение температуры может быть обеспечено применением гидрогелей на место облучения. Показана способность ХПС вызывать гибель клеток, опосредованную окислительным стрессом, при этом опухолевые клетки более восприимчивы к действию ХПС, чем нетрансформированные. Полученные ранее данные о цитотоксичности холодной плазмы в отношении опухолевых клеток позволяют перейти к экспериментам *in vivo*.

Цель исследования – изучить термическую безопасность и эффективность противоопухолевого воздействия ХПС на опухоли меланомы кожи В16 *in vivo*.

Материалы и методы. В исследовании использовали мышей линии С57BL. Мышам трансплантировали подкожно клетки меланомы мыши В16. После формирования опухолей животных делили на 3 экспериментальные группы: а) необлученный контроль, б) облучение ХПС, в) облучение ХПС с гидрогелем. Генератор ХПС был разработан в ИФП СО РАН. Облучение опухолей проводили ХПС в гелии с импульсным типом напряжения (7 мкс) при амплитуде напряжения 4,2 кВ и частоте 30 кГц. Торможение роста опухолей у животных, прошедших 6 раундов облучения, оценивали относительно животных из контрольной группы через 5 дней после последнего облучения.

Результаты. Во всех экспериментальных группах температура кожи в месте облучения не превышала 40°C. Использование гидрогеля позволяло увеличить время обработки с 2 до 5 мин без повышения температуры облучаемой мишени. Облучение опухолей ХПС в указанном режиме вызывало торможение роста опухолей на 57 % в группе ХПС и на 46 % в группе ХПС с гидрогелем по сравнению с контрольной группой. Масса животных, вес печени, селезенки, а также количество метастазов достоверно не отличались между группами. Дополнительным положительным эффектом лечения ХПС было увеличение выживаемости в группе ХПС и ХПС с гидрогелем.

Заключение. Полученные результаты позволяют говорить о термической безопасности и противоопухолевой активности ХПС в отношении меланомы кожи.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 19-19-00255-П, 22-49-08003.

НОКДАУН ПЛЕКСИНА А2 ВЫЗЫВАЕТ АПОПТОЗ В 2D- И 3D-КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ, РЕЗИСТЕНТНЫХ К ДАКАРБАЗИНУ

В.А. Куценко^{1,2}, Д.В. Черных^{1,2}, Т.Г. Рукша¹

¹ФГБОУ ВО «КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск;

²ФГБОУ ВО «Сибирский федеральный университет», Красноярск

e-mail: tatyana_ruksha@mail.ru

Ключевые слова: апоптоз, 2D-культура клеток, 3D-культура клеток, меланомы кожи, дакарбазин, молекулы фокальной адгезии

Введение. Процесс фокальной адгезии неразрывно связан с динамикой клеточного цикла. Установлено, что химиотерапевтический препарат дакарбазин индуцирует не только арест клеточного цикла G2/M с последующим развитием апоптоза, но и переход части клеток меланомы в G0, фазу покоя.

Цель исследования — оценить выраженность апоптоза в 2D- и 3D-культурах клеток меланомы кожи, устойчивых к воздействию дакарбазина, после нокдауна молекул фокальной адгезии.

Материалы и методы. Относительный уровень экспрессии молекул фокальной адгезии ITGA2, ITGA6, ITGAV, ITGB1, ITGB3, ITGB5, ITGB8, PIK3R1, FGFR2, PLEXIN A2 определялся на основе полимеразной цепной реакции в реальном времени в клеточных линиях меланомы A375, SK-MEL-2 и BRO до и после воздействия дакарбазином при полумаксимальной концентрации ингибирования (IC₅₀), определенной методом МТТ. 3D-сфероиды формировали методом «висячей капли» на чашах Петри. Трансфекция малых интерферирующих РНК к плексину А2 в клетках меланомы была выполнена в концентрации 40 нМоль в комплексе с трансфектантом GenJect-40 (Moloca, Россия). Методом проточной цитометрии детектировали распределение клеток по фазам клеточного цикла с помощью окраски йодистым пропидием и инкубации с моноклональными антителами к Ki-67 (ThermoFisher Scientific, USA), а также оценивали выраженность апоптоза (с помощью набора AnnexinV-FITC Apoptosis Kit (Abcam, UK)).

Результаты. В линии A375 после воздействия дакарбазином выявлено снижение экспрессии ITGA2, ITGB1, ITGB3, ITGB5, ITGAV, в SK-MEL-2 — ITGA6, в BRO — ITGB8. Повышение уровня мРНК плексина А2, PIK3R1 и FGFR2 наблюдалось в SK-MEL-2, A375. По данным проточной цитометрии регистрировалось

увеличение доли G0-положительных клеток после воздействия дакарбазином. При формировании 3D-сфероидов доля Ki-67 негативных клеток увеличивалась в 1,5 и 2 раза в BRO и SK-MEL-2. После нокдауна плексина А2 в клетках меланомы A375 и SK-MEL-2, сохранявших жизнеспособность после воздействия дакарбазином, наблюдалось увеличение доли апоптотических и некротических клеток в 2 раза по сравнению с клетками, на которых оказывалось воздействие дакарбазином с последующей трансфекцией скрамблированных РНК. Помимо этого, в клетках A375 регистрировалось увеличение доли клеток в фазе G1 клеточного цикла.

Заключение. Плексин А2 опосредует апоптоз клеток меланомы, находящихся в фазе G0 клеточного цикла. Целевое воздействие на молекулы фокальной адгезии может быть применено в качестве подхода для индукции апоптоза непролиферирующих клеток.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 19-15-00110П).

НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ФЕОСФЕРИДА А: МЕХАНИЗМЫ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ

Л.А. Лалетина¹, Н.Н. Калитин¹, Н.И. Моисеева¹, В.В. Абзианидзе²

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

²ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, Санкт-Петербург
e-mail: panlidia@gmail.com

Ключевые слова: PPA, AV6, цитотоксичность, противоопухолевое действие

Введение. Феосферид А (PPA) принадлежит к группе природных соединений и обладает противоопухолевыми свойствами. Этот натуральный продукт был впервые выделен из эндофитного гриба FA39 (*Phaeosphaeria avenaria*). В дальнейшем группой В.В. Абзианидзе были синтезированы производные PPA с усиленными противоопухолевыми свойствами. Наиболее перспективным веществом оказалось AV6, показавшее значительный цитотоксический эффект на культурах клеток различного гистогенеза, а также способность преодолевать лекарственную устойчивость, вызванную гиперэкспрессией Р-гликопротеина.

Цель исследования — на данном этапе оценить цитотоксичность (ЦТ) некоторых новых производных PPA и AV6, а также исследовать механизмы противоопухолевого действия этих соединений.

Материалы и методы. В работе использовались следующие культуры клеток: адгезионные HCT-116, MCF-7, PC3 и суспензионные NCI-H929 и H9. Для оценки ЦТ применялся МТТ-тест, индукция апоптоза исследовалась с помощью вестерн-блота и проточной цитометрии, накопление реактивных форм кислорода оценивалось с помощью проточной цитометрии.

Результаты. ЦТ полученных соединений исследовали на панели из линейных опухолевых культур различного гистогенеза. Для дальнейшего исследования были отобраны вещества AV6 и P18, IC₅₀ которых была от 2 до 5 мкМ для линий клеток эпителиальных опухолей и менее 1 мкМ – для линий клеток опухолей кроветворной системы. Установлено, что вещества AV6 и P18 индуцируют выраженную гибель клеток множественной миеломы человека линии NCI-H929 через митохондриальный каспазозависимый путь апоптоза: под действием обоих веществ наблюдалась дозозависимая активация каспаз 3 и 7 на фоне инактивации репарационного белка PARP-1 соответственно. Дозозависимый эффект также наблюдался при двойной окраске с помощью Annexin V-FITC/PI после инкубации с 0,5, 1 и 2 мкМ соединениями в течение 24 ч. Кроме того, показано, что и AV6 и P18 способны увеличивать накопление реактивных форм кислорода в клетках линии NCI-H929 уже после 4 ч инкубации с исследуемыми веществами.

Заключение. Полученные соединения наиболее активны против клеток опухолей кроветворной системы, и вероятный механизм, по которому вещества вызывают гибель клеток, – это митохондриальный каспазозависимый путь апоптоза.

СИСТЕМАТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ КИНАЗ ERK1/2 В ВЫЖИВАНИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ КЛЕТОК С ПОМОЩЬЮ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ПРЕДСКАЗАНИЯ НОВЫХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ

Т.Д. Лебедев¹, А.М. Михеева^{1,2}, М.А. Богомолов^{1,2}, М.В. Семенов^{1,2}, А.А. Буздин^{2,3}, В.С. Прасолов¹

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

²ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (Национальный исследовательский университет)», Долгопрудный;

³ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН», Москва
e-mail: lebedevtd@gmail.com

Ключевые слова: ERK1/2, противоопухолевые препараты, новые терапевтические подходы

Введение. На сигнальный каскад MAPK приходится большинство мутаций, ассоциированных с развитием злокачественных заболеваний, таких как мутации генов *RAS*, *RAF*, *EGFR*, *ALK*, *KIT*, *NF1*. Многие противоопухолевые препараты воздействуют на компоненты MAPK-пути, однако злокачественные клетки часто приобретают резистентность к таким ингибиторам за счет различных механизмов реактивации киназ ERK1/2. Понимание механизмов активации и подавления ERK1/2 под действием противоопухолевых

препаратов позволит улучшить эффективность использования многих лекарственных препаратов в терапии.

Цель исследования – выявить, какие противоопухолевые препараты влияют на активность ERK1/2 на уровне индивидуальных клеток, и установить механизмы, ассоциированные с ингибированием или активацией ERK1/2.

Материалы и методы. Для изучения активности ERK1/2 созданы 9 клеточных линий различной природы с постоянной экспрессией флуоресцентного репортера активности ERK1/2. Активность ERK1/2 и морфологические параметры ядер и цитоплазмы клеток измеряли с помощью флуоресцентной микроскопии и программ CellProfiler и Cellpose. Транскриптомное исследование проводили на платформе Illumina, активность сигнальных путей оценивали с помощью метода Oncobox.

Результаты. Мы проанализировали более 4 млн клеток на 49 тыс. фотографий и создали базу данных из 2340 уникальных условий воздействия 37 противоопухолевых препаратов на активность ERK1/2 и жизнеспособность 9 клеточных линий различной природы. Мы показали, что ингибиторы киназ PI3K, ALK, MET, ингибиторы синтеза и репарации ДНК приводят к активации ERK1/2 в большинстве клеток, а ингибиторы BET, HSP-90 и MEK1/2 существенно снижают активность ERK1/2 независимо от типа клеток. Сравнение транскриптомных профилей клеток различных линий позволило установить, какие сигнальные пути могут определять воздействие конкретного препарата на активность ERK1/2. Анализ динамики изменений активности ERK1/2 позволил выявить группы ингибиторов, для которых реактивация ERK1/2 является ключевым механизмом формирования резистентности. Количественная оценка морфологических параметров индивидуальных клеток позволила определить, какие из фенотипов могут быть чувствительными или резистентными к ингибированию ERK1/2.

Заключение. Систематический анализ активности ERK1/2 позволяет выявлять механизмы адаптации злокачественных клеток к противоопухолевым препаратам и предсказывать эффективность применения селективных ингибиторов ERK1/2.

РАЗРАБОТКА ПРОТИВОМЕТАСТАТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСА МИКРОРНК

Н.В. Литвяков¹, А.Г. Першина², К.В. Невская², М.К. Ибрагимова¹, Е.С. Хмельская², Д.С. Долгашева¹, И.А. Цыденова¹, А.А. Уфандеев², Е.Е. Буйко², К.А. Гаптулбарова¹, Е.А. Кравцова², В.В. Иванов², Е.В. Удуг²

¹лаборатория онковирусологии НИИ онкологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск;

²центральная научно-исследовательская лаборатория ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск
e-mail: nvlitv72@yandex.ru

Ключевые слова: микроРНК, метастазирование, стволовая пластичность, гены стволовости

Введение. На момент постановки диагноза во вторичных органах уже есть микрометастазы, и для формирования макрометастаза опухолевых клеткам остается только выйти из дормантного состояния и образовать стволовые клетки. Наша оригинальная стратегия антиметастатического лечения – блокирование дедифференцировки опухолевых клеток за счет подавления экспрессии генов стволовости, основных индукторов дедифференцировки.

Концепция нашего исследования заключалась в использовании эндогенных молекул микроРНК, которые были бы способны ингибировать гены стволовости и, как следствие, дедифференцировку опухолевых клеток с образованием опухолевых стволовых клеток и переход микро- в макрометастаз для создания эффективного противометастатического препарата.

Цель исследования – разработать препарат, предотвращающий метастазирование опухолей.

Материалы и методы. На I этапе работ с использованием биоинформатических подходов и анализа литературы выбраны 13 микроРНК, таргетированные к основным генам стволовости. На II этапе проведен скрининг этих микроРНК на способность ингибировать гены стволовости на клетках линий рака молочной железы человека. Последний II этап исследования включал тестирование влияния смесей наиболее эффективных микроРНК на способность блокировать IL6-индуцированную дедифференцировку CD44-опухолевых клеток *in vitro* и *in vivo*, а также предотвращать метастазирование.

Результаты. Из 13 микроРНК-мимиков, таргетированных к генам стволовости, *in vitro* отобрали 5, которые оказывали наиболее выраженное специфическое ингибирующее действие на гены стволовости линий T47D и BT474. Из них сформировали 2 смеси Mix1 и Mix2 по 3 микроРНК. После дополнительного изучения ингибирующей активности смесей была выбрана Mix2: она ингибировала экспрессию 86,6 % дифференциально экспрессирующихся генов (3605 генов) линии T47D. Среди 43 генов стволовости дифференциально ингибированными оказались 20 генов, активированными – 3 гена. Снижалась экспрессия известных маркеров опухолевых стволовых клеток: CD44, ALDH1A1, CD24, ABCG2, ST8SIA1. Добавление Mix2 приводило к снижению способности клеток T47D и BT474 к образованию маммосфер. Дифференцированные CD44-клетки линии T47D на модели IL-6 индуцированной дедифференцировки способны давать начало росту опухолевого узла у ксенографтов. Предварительная однократная обработка CDD44-клеток

T47D при помощи Mix2 приводила к сильному уменьшению размеров опухолевых узлов и практически к полной регрессии образовавшихся небольших опухолевых узлов на 47-е сутки роста. Показано, что 3-кратное внутривенное введение мышам Mix2, инкапсулированного в липосомы, приводило к резкому уменьшению количества метастазов LLC в легких мышей. Индекс ИММ составил 54,43; 92,41 и 98,31 % после введения в дозах 0,3; 0,6 и 1,35 мг/кг соответственно.

Заключение. Таким образом, смесь 3 микроРНК Mix2 показала значительную противометастатическую активность за счет ингибирования генов стволовости и процесса дедифференцировки.

Работа поддержана грантом Минобрнауки России № 075-15-2021-1073.

ИОННО СШИТЫЕ МИКРОРАЗМЕРНЫЕ ГИДРОГЕЛИ С ИНКАПСУЛИРОВАННЫМ ЛЕКАРСТВЕННЫМ ПРЕПАРАТОМ: СТРУКТУРА, КИНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНОЙ ДЕГРАДАЦИИ И ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ

А.Р. Лукманова¹, В.В. Спиридонов¹, Ю.Л. Володина², Минь Туан Нгуен³, А.А. Маркова³, А.А. Ярославов¹

¹ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва;

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

³ФГБУН «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН», Москва
e-mail: alenmark25@gmail.com

Ключевые слова: наноконпозиты на основе альгината натрия, ферментативная устойчивость, альгинатлиаза, гиалуронидаза, инкапсулирование, доксорубин, цитотоксичность, гидрогели

Введение. Одной из задач современной фармакологии является создание систем для контролируемой доставки и высвобождения лекарственных препаратов. Имобилизация лекарственного средства позволяет сконцентрировать биологически активные молекулы в малом объеме. При такой методике достигается максимальный терапевтический эффект препарата при минимальных побочных эффектах. Эта задача может быть решена с помощью контейнеров, способных контролируемо разрушаться под действием ферментов. Полисахарид альгинат натрия является перспективным кандидатом для создания таких контейнеров. Анионные полимеры представляют особый интерес из-за их способности электростатически связывать различные катионные биологически активные вещества. Поливалентные катионы действуют как сшивающие агенты, вызывая образование наноразмерных ионно-сшитых гидрогелей, а после завершения доставки лекарственного средства полисахаридный носитель может быть расщеплен ферментами и выведен из организма.

Цель исследования — синтез нанокompозитов на основе альгината натрия, исследование их ферментативной устойчивости под действием специфичного (альгинат-лиазы) и неспецифичного (гиалуронидазы) ферментов, а также инкапсулирование полученных контейнеров противоопухолевым антибиотиком доксорубицином (ДОКС) и изучение цитотоксичности (ЦТ) гидрогелей, нагруженных ДОКС.

Материалы и методы. Гидрогели синтезировали путем электростатического сшивания альгинальга натрия с катионами Ca^{2+} в трех разных соотношениях звена альгината к сшивающему агенту: 15: 1, 10: 1 и 7: 1. Были изучены электрофоретическая подвижность частиц, гидродинамический диаметр и молекулярная масса гидрогелей, полученные с использованием динамического светорассеяния и статического светорассеяния соответственно. Действие ферментов, приводящих к распаду синтезированных нанокompозитов, было изучено в физиологической среде методом динамического рассеяния света.

Биологическую активность ДОКС-загруженных тройных гидрогелей тестировали в отношении 3 клеточных линий: HCT116, аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 и hTERT-иммортиализованных фибробластов. ЦТ тройных гидрогелей и свободного ДОКС оценивали в экспериментах *in vitro* с использованием стандартного МТТ-теста.

Результаты. Сшивка альгината натрия катионами Ca^{2+} в водном растворе приводит к гидрогелям Ca^{2+} -Alg, которые распадаются в физиологической среде под действием ферментов. Кроме того, гидрогели могут включать катионный противоопухолевый антибиотик ДОКС. ДОКС-содержащие гидрогели были инертны без ферментативного высвобождения ДОКС, но при действии гиалуронидазы они за счет высвобождения ДОКС сохраняли или даже усиливали гибель опухолевых клеток, ЦТ по сравнению со свободным ДОКС.

Заключение. Результаты работы могут быть использованы для конструирования контейнеров с целью инкапсуляции и доставки лекарств, а также контроля их взаимодействия с клетками.

Работа выполнена при поддержке РФФ (проект № 23-23-00156).

ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ КОМБИНАЦИЙ ДЕМЕТИЛИРУЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ И ИНГИБИТОРОВ ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПТАЗЫ В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА

Х.М. Магомедова¹, О.А. Власова¹, В.А. Нуртдинова¹, И.А. Антонова (Чернова)¹, А.А. Борунова¹, Т.Н. Заботина¹, К.И. Кирсанов^{1,2}, М.Г. Якубовская¹

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

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва
e-mail: h_magomedova2000@mail.ru

Ключевые слова: острый миелоидный лейкоз, деметилирующие препараты, ингибиторы обратной транскриптазы

Введение. При лечении острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) деметилирующими препаратами эффективность терапии связывают с активацией генов опухолевых супрессоров, обусловленной снятием эпигенетической репрессии. Однако при этом установлена активация экспрессии репрессированных в норме некодирующих последовательностей гетерохроматина, включая длинные диспергированные повторы LINE1. Это приводит к росту генетической нестабильности опухоли и рецидиву заболевания. Для превентивного подавления активности ретротранспозиции LINE1 предлагается использование нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (ИОТ). Для оценки перспективности предлагаемого подхода проведен анализ цитотоксического действия моно- и комбинированной обработки деметилирующими препаратами и ИОТ в отношении культивируемых *in vitro* клеток ОМЛ.

Цель исследования — анализ цитотоксичности (ЦТ) монорежимов и комбинаций деметилирующих препаратов и ИОТ в отношении клеток линий ОМЛ человека (ТНР-1 и KG-1) и мыши (WENI-3).

Материалы и методы. Влияние препаратов 2 исследуемых групп и их комбинаций определяли в отношении клеток KG-1, ТНР-1, WENI-3 с помощью резазуринового теста. Долю апоптотических и некротических клеток определяли с помощью окраски annexin/PI клеток с последующим анализом распределений популяций обработанных и контрольных клеток на проточном цитометре (BD FACS Calibur).

Результаты. Нуклеозидные ИОТ ламивудин, ставудин и зидовудин в концентрациях до 50 μM не проявляли цитотоксического эффекта в отношении клеток всех используемых линий ОМЛ. Однако при комбинировании зидовудина в концентрации 20 μM или коктейля ИОТ (ламивудин 10 μM + зидовудин 10 μM) с 5-азациитидином в широком диапазоне концентраций был показан значительный рост ЦТ на клетках KG1, ТНР-1, WENI-3. Продемонстрировано увеличение количества клеток в позднем апоптозе в 1,9 раза и в раннем апоптозе в 1,6 раза при воздействии комбинации зидовудина 20 μM и 5-азациитидина (5 μM) по сравнению с обработкой клеток 5-азациитидином (5 μM) в монорежиме. Для всех 3 ИОТ выявлен потенцирующий эффект при их комбинировании с децитабином по ЦТ в отношении клеток используемых линий ОМЛ.

Заключение. Нуклеозидные ИОТ ламивудин, ставудин и зидовудин увеличивают цитотоксический эффект децитабина на клеточных линиях ОМЛ, в то время как цитотоксический эффект 5-азациитидина усиливает только зидовудин и коктейль ИОТ (ламивудин + зидовудин).

Работа поддержана грантом РФФ № 23-25-00276.

ВЛИЯНИЕ СВL0137 НА РЕГУЛЯЦИЮ КЛЕТочНОГО ЦИКЛА В КЛЕТКАХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ *IN VITRO*

В.П. Максимова¹, Е.С. Лылова¹, В.Г. Попова^{1,2},
А.Ю. Букина¹⁻³, М.Г. Якубовская^{1,2}, К.И. Кирсанов^{1,2}

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

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов
им. Патриса Лумумбы», Москва;

³ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический
университет», Москва
e-mail: lavarvar@gmail.com

Ключевые слова: СВL0137, регуляция клеточного цикла, рак молочной железы

Введение. Рак молочной железы (PMЖ) занимает лидирующее место по заболеваемости и входит в пятерку самых смертельных злокачественных новообразований. Для клеток PMЖ характерны различные нарушения в механизмах эпигенетической регуляции транскрипции, включая гиперэкспрессию бромодоменов (BRDs), которая ассоциирована с метастазированием и неблагоприятным прогнозом течения заболевания. Одним из разрабатываемых подходов для терапии PMЖ является применение ингибиторов BRDs в комбинации с уже используемыми противоопухолевыми препаратами. Ранее мы впервые продемонстрировали, что негенотоксический противоопухолевый препарат СВL0137 (СВL) ингибирует экспрессию BRDs в клетках рака шейки матки и PMЖ. Однако противоопухолевые эффекты СВL на клетки PMЖ ранее не исследовались.

Цель исследования – изучить эффекты СВL на регуляцию клеточного цикла в клетках PMЖ различных молекулярных подтипов в концентрациях, вызывающих снижение экспрессии BRDs.

Материалы и методы. Клетки PMЖ MCF7 (ER⁺, PR⁺, HER2⁻), MDA-MB-231 (ER⁻, PR⁻, HER2⁻), SKBR3 (ER⁻, PR⁻, HER2⁺) инкубировали с СВL (2; 1; 0,5 μM) в течение 24 ч. Оценку распределения клеток по фазам клеточного цикла осуществляли с помощью проточной цитометрии с окраской PI. Анализ экспрессии генов, ассоциированных с регуляцией клеточного цикла, проводили методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. Статистический анализ данных осуществляли с помощью одно- и двухфакторных анализов ANOVA (при пороговом значении $p < 0,05$).

Результаты. При действии СВL был зарегистрирован арест клеточного цикла в фазе G2/M в клетках MCF7 (при концентрации 0,5 μM) и MDA-MB-231 (2 и 0,5 μM). После обработки клеток SKBR3 СВL (2 μM) показано статистически значимое уменьшение доли клеток в фазе G1 за счет суммарного увеличения количества клеток в фазах S и G2/M.

Для всех клеточных линий показано более чем 2-кратное повышение экспрессии гена *CCND1* при

обработке 0,5 μM СВL, а также возрастание экспрессии *CCNE1* под воздействием 2 μM СВL в 5–8 раз, что соответствует продвижению по G1-фазе клеточного цикла. Для клеток MCF7 и SKBR3 было показано снижение экспрессии генов маркеров пролиферации *Ki-67*, *AURKA* и *AURKB*, что говорит об остановке клеточного цикла в G2/M-фазе. Экспрессия гена *WEE1*, кодирующего отрицательный регулятор входа в митоз, увеличивалась в 2 раза в клетках MDA-MB-231 при обработке СВL в высоких дозах. Напротив, в клетках MCF7 наблюдалось слабое снижение экспрессии *WEE1* во всем диапазоне концентраций. Для SKBR3 и MCF7 было отмечено снижение экспрессии генов *CDK4* и *CDK6* при действии 1 μM СВL, что соответствует антипролиферативному эффекту.

Заключение. Таким образом, СВL проявляет антипролиферативный эффект в отношении клеток PMЖ различных молекулярных подтипов преимущественно за счет ареста в G2/M-фазе.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 21-75-10163).

ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМНОГО ОТВЕТА НА АДЪЮВАНТНУЮ ЛУЧЕВУЮ ТЕРАПИЮ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НОСИТЕЛЕЙ TNF-АССОЦИИРОВАННЫХ ГЕНОТИПОВ

Т.Ф. Маливанова, Т.А. Астрелина, И.В. Кобзева,
Ю.Б. Сучкова, В.А. Никитина, Д.Ю. Усупжанова,
А.И. Головкова, В.А. Брунчуков, А.А. Расторгуева,
Е.Е. Ломоносова, Е.С. Любаева, А.П. Кирильчев,
М.Ю. Сухова, А.С. Самойлов

ФГБУ «ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна» ФМБА России,
Москва
e-mail: tmalivanova@yandex.ru

Ключевые слова: рак молочной железы, фактор некроза опухоли, геномный полиморфизм

Введение. Адъювантная лучевая терапия (АДЛТ) приводит к сдвигу гомеостаза, что может отражаться в рутинных общеклинических тестах. Фактор некроза опухоли (TNF) как воспалительный цитокин способен влиять практически на все составляющие формулы крови.

Цель исследования – оценка системного ответа на курс АДЛТ у больных раком молочной железы (PMЖ) носителей TNF-ассоциированных генотипов.

Материалы и методы. Образцы крови получены от 147 больных PMЖ в начале и в конце курса АДЛТ (РОД 2 Гр до СОД 50 Гр). Генотипирование по –308 (G/A) TNF и маркерным аллелям стабильного наследуемого гаплотипа AN8.1 (HLA-A*01, HLA-B*08 и HLA-DRB1*03) проводили методом аллель-специфической полимеразной цепной реакции. Концентрацию sTNF в сыворотках крови определяли методом

иммуноферментного анализа. Данные общеклинического анализа крови получали из историй болезни.

Результаты. На основе генотипирования выделены: 114 (77,6 %) носителей -308GG гена *TNF* независимо от наличия аллелей АН8.1; 23 (15,6 %) носителя -308А (АН8.1pos) имели маркерные аллели АН8.1; 10 (6,8 %) носителей -308А (АН8.1neg) не имели ни одного маркерного аллеля АН8.1 (ранее описан как прогностически неблагоприятный генотип РМЖ, ассоциированный с повышенным уровнем sTNF). У носителей -308GG и -308А (АН8.1pos) АДЛТ оказывала угнетающее действие на уровень маркера воспаления sTNF и абсолютные показатели лимфоцитов и тромбоцитов (парный *t*-тест $p < 0,01$). У носителей -308А (АН8.1neg) количество лимфоцитов так же достоверно снижалось, но сохранялся повышенный уровень sTNF. Положительные корреляционные связи были выявлены только в группе -308А (АН8.1neg) в конце АДЛТ между sTNF и нейтрофилами ($r = 0,70$; $p = 0,027$), sTNF и тромбоцитами ($r = 0,67$; $p = 0,039$), что говорит о возможности активации механизмов опухоль-ассоциированного тромбоза и метастазирования.

Заключение. Для больных РМЖ носителей генотипа -308А (АН8.1neg), ассоциированного с повышенным уровнем sTNF, в качестве индивидуализированной терапии можно рассматривать применение анти-TNF и антитромботических препаратов, что требует дальнейшего детального исследования.

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ИНГИБИТОРОВ PARP1 НА PARP1-ИНДУЦИРОВАННУЮ РЕОРГАНИЗАЦИЮ ХРОМАТИНА

Н.В. Малюченко¹, А.Н. Коровина¹, Д.К. Ниллов²,
П.А. Черникова¹, А.А. Лобанова¹, В.М. Студитский^{1,3},
А.В. Феофанов^{1,4}

¹ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва;

²НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва;

³Онкологический центр Фокс Чейз, Филадельфия, США;

⁴ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН», Москва
e-mail: mal_nat@mail.ru

Ключевые слова: PARP1, 7-метилгуанин, 8-окси-7-метилгуанин, нуклеосома, spFRET

Введение. Поли(АДФ-рибоза-)полимераза 1 (PARP1) является мишенью для таргетной противоопухолевой терапии. Однако наличие побочных эффектов у ряда ингибиторов PARP1 (PARPi) ограничивает их широкое применение в клинике. Одной из причин высокой токсичности PARPi является их способность удерживать PARP1 на ДНК в хроматине (так называемый трэппинг – trapping). Трэппинг приводит к образованию непродуктивных комплексов PARP1-ДНК,

которые препятствуют транскрипции, репарации и репликации. Именно поэтому при разработке новых PARPi необходимо изучать их способность к удержанию PARP1 на ДНК в хроматине.

Цель исследования – разработать методику изучения трэппинга исследуемыми соединениями PARP1 в комплексе с нуклеосомами, базисными структурными единицами хроматина, по их влиянию на PARP1-индуцированные структурные изменения в нуклеосомах.

Материалы и методы. В исследовании использовали нуклеосомы с донор-акцепторной парой флуорофоров, введенных в соседние супервитки ДНК. Структурные изменения в нуклеосомах изучали с помощью spFRET-микроскопии. Исследовали действие трех референсных PARPi: олапариба (Ola), талазопариба (Tala) и велипариба (Veli), эффект трэппинга которых известен. Изучали способность к трэппингу PARP1 на нуклеосомах ряда растительных полифенолов и соединений на основе природных азотистых оснований: 7-метилгуанина (7МГ) и 8-окси-7-метилгуанина (8o7МГ).

Результаты. С использованием нуклеосомной системы показано следующее: 1) все исследованные соединения в тестируемом диапазоне концентраций не влияют на структуру нуклеосом; 2) способные к трэппингу PARPi стабилизируют структурные изменения в нуклеосомах, вызванные образованием комплекса с PARP1; 3) для референсных PARPi трэппинг снижается в ряду Tala>Ola>Veli, что соответствует эффекту данных PARPi в клетках; 4) 7МГ и 8o7МГ отличаются по механизму действия на PARP1; 8o7МГ характеризуется более сильным трэппинг-эффектом по отношению к PARP1, чем 7МГ; 5) некоторые растительные полифенолы обладают способностью к умеренному удержанию PARP1 в комплексе с нуклеосомами.

Заключение. Предложенная методика обеспечивает изучение механизма действия PARPi и оценку их способности к трэппингу PARP1 в хроматине. Получены новые данные о действии потенциальных ингибиторов PARP1 натурального происхождения.

Тестирование референсных ингибиторов и полифенолов выполнено при финансовой поддержке РНФ (проект № 19-74-30003), тестирование 7-метилгуанина и 8-окси-7-метилгуанина поддержано в рамках междисциплинарных научно-образовательных школ Московского университета (проект № 23-Ш04-57).

ИСПЫТАНИЯ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ IN VITRO: ПРОГРЕСС МЕТОДОЛОГИЙ И ПРОБЛЕМЫ

Б.А. Маргулис

ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург
e-mail: margulis@incras.ru

Количество потенциальных лекарств, которые находятся в коллекциях мирового фармакологического

сообщества, к настоящему времени составляет несколько сотен миллионов препаратов. Многие из них годами «ждут» своей очереди на испытания биологической активности, и тенденция в данной области складывается таким образом, что для первичной фазы испытаний часто выбирают клеточные культуры. В докладе предлагается обзор наиболее эффективных средств для анализа противоопухолевой активности *in vitro* или комбинации последнего с переносом опухоли в мышей и из последних с полностью выключенной иммунной системой (NSG и др.) и обсуждаются проблемы, связанные с применением клеточных моделей онкологических заболеваний. В последние годы активно развиваются 3-мерные культуры (сфероиды, тумороиды), формирующиеся из линейных и первичных клеток, и более сложные системы, состоящие из клеток нескольких типов и более подробно отражающие картину развития опухоли с ее микроокружением. В качестве мишени чаще выбираются клетки, претерпевающие фенотипические изменения, подобные тем, которые характерны для динамики опухоли, например эпителиально-мезенхимный переход, гормонзависимая индукция роста или, напротив, подавление роста опухоли иммунным контролем или окислительным стрессом, гипоксией. Подобные модели позволяют решить задачу установления влияния какого-либо препарата на жизнеспособность опухоли и динамику опухолевого роста и одновременно определения молекулярных мишеней действия исследуемых соединений.

Особое внимание в работе уделяется анализу моделей опухолевого рецидива и определению эффектов комбинационных средств терапии на метастазирующие раковые клетки.

Работа поддержана грантом РФФИ № 19-74-20161.

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТЕРАПИИ ГИГАНТОКЛЕТОЧНОЙ ОПУХОЛИ КОСТИ

Г.Н. Мачак

ФГБУ «НМИЦ травматологии и ортопедии
им. Н.Н. Приорова» Минздрава России
e-mail: machak.gennady@mail.ru

Лечение местно-распространенной/неоперабельной гигантоклеточной опухоли кости (ГКО) продолжает оставаться сложной клинической задачей. Используемые в настоящее время подходы к лекарственному лечению первичной или рецидивирующей ГКО основаны на ингибировании каскада RANKL-RANK и разрыве порочного круга, который формируется на уровне микроокружения между мутированными G34W⁺ клетками и реактивными гигантскими, многоядерными остеокластоподобными клетками, ответственными за остеоклазию. Несмотря на очевидную противоопухолевую активность бисфосфонатов *in vitro*, в первую

очередь золедроновой кислоты, клиническое использование препаратов данной группы в качестве 1-й линии имеет ограниченную роль из-за низкого поглощения фосфатных соединений остеолитическими опухолями.

При ГКО III стадии предоперационная терапия преследует цель перевести опухоль в резектабельную форму и выполнить менее травмирующую функционально-сберегающую операцию. В случае неоперабельных ГКО рассматривается прежде всего пожизненное введение деносумаба, что связано с токсичностью, осложнениями в отдаленные сроки и финансовыми затратами. В качестве альтернативных подходов обсуждаются различные варианты цитотоксического воздействия на популяцию мутированных клеток. В случае длительного применения деносумаба рассматривается увеличение интервалов между введениями, лечение под контролем маркеров резорбции и современных методов визуализации с возобновлением терапии при реактивации процесса.

Важным аспектом терапии деносумабом является временный характер влияния на течение ГКО. Даже при достижении выраженной клинико-рентгенологической динамики в виде купирования болевого синдрома и оссификации патологического очага после отмены деносумаба, как правило, опухоли рецидивируют из-за отсутствия прямого цитотоксического эффекта препарата на мутированные клетки. В то же время повторная блокада порочного круга при реактивации каскада RANKL-RANK оказывается успешной в большинстве случаев. В связи с этим лечение деносумабом с переводом опухоли в резектабельную форму должно закончиться хирургическим вмешательством. При нерезектабельных опухолях препарат должен вводиться непрерывно, возможно с увеличенными интервалами и при строгом мониторинге.

Нами обсуждены перспективные направления лекарственной терапии с учетом последних данных о молекулярно-биологических механизмах патогенеза ГКО.

АНТИГЕН-ПРЕЗЕНТИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ МОНОЦИТАРНЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК И ИХ СПОСОБНОСТЬ ИНДУЦИРОВАТЬ АПОПТОЗ КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ В КОКУЛЬТУРЕ МОНОНУКЛЕАРОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ *IN VITRO*

**Ю.П. Маясин¹, М.Н. Осинникова¹, Ч.Б. Харисова¹,
А.В. Городилова¹, И.Ю. Филин¹, К.В. Китаева¹,
В.В. Соловьева¹, А.А. Ризванов¹**

ФГБОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный
университет», Казань
e-mail: mayasin_yuriy@mail.ru

Ключевые слова: иммунотерапия, меланома, дендритные клетки, внеклеточные мембранные везикулы

Введение. Дендритные клетки (ДК) – антиген-презентирующие клетки, направляющие антиген-специфическое действие клеток иммунной системы на элиминацию патогена. ДК-опосредованный иммунный ответ нацелен на уничтожение чужеродных агентов, однако описанные свойства ДК свидетельствуют о возможности их применения в иммунотерапии рака.

Цель исследования – произвести оценку способности ДК моноцитарного происхождения (мо-ДК) активировать мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК) и индуцировать апоптоз клеток меланомы человека *in vitro*.

Материалы и методы. Выделили МКПК из периферической крови человека. Дифференцировка мо-ДК производилась из CD14⁺-моноцитов с добавлением интерлейкина – IL-4 и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора. Для индукции созревания добавляли к мо-ДК цитокиновый коктейль (IL-1 β , фактор некроза опухоли α , IL-6, простагландин E2) и нагружали опухоль-ассоциированным антигеном, в качестве которого использовались искусственно индуцированные мембранные везикулы, полученные из клеток меланомы M14. Для оценки иммунофенотипа использовали метод проточной цитометрии.

Для проведения антиген-презентации и активации иммунных клеток к зрелым мо-ДК добавили свежeweделенные МКПК. По окончании периода кокультивирования оценили изменение иммунофенотипа в популяции Т-киллеров (ЦТЛ), резидентных в МКПК.

Результаты. Численность популяции клеток, экспрессирующих иммунофенотип зрелых мо-ДК, значительно отличалась в контрольном (свежeweделенные МКПК) и опытном (мо-ДК на 7-й день культивации) образцах и составляла 27,1 и 93 % от общего количества клеток в популяции соответственно. Анализ численности популяции ЦТЛ также показал отличия в контрольном и опытном (МКПК кокультивированные с мо-ДК) образцах – 12,9 и 28,4 % соответственно.

Выявлено, что доля апоптирующих опухолевых клеток в негативном контроле (нативная культура меланомы M14) составила 12,7 %. При добавлении нативных МКПК к клеткам меланомы M14 количество апоптирующих опухолевых клеток увеличивалось только на 3 % относительно негативного контроля, в то время как в опытном варианте – до 18 %.

Заключение. Получены и охарактеризованы зрелые моноцитарные ДК, активированные при помощи индуцированных мембранных везикул, показана их антиген-презентирующая активность и способность активировать иммунные клетки при кокультивировании. Выявлено туморицидное действие активированных иммунных клеток, что создает новые возможности применения мо-ДК в иммунотерапии рака. Однако необходимы дальнейшие исследования методов усиления противоопухолевого потенциала ДК для их применения в клинической практике.

Исследование выполнено в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета («Приоритет-2030») и финансируется за счет гранта РНФ № 22-24-20018.

ИНГИБИРОВАНИЕ ТАМОКСИФЕНОМ РОСТА КЛЕТОК И ЗАПУСК МЕХАНИЗМА СТАРЕНИЯ В КУЛЬТУРЕ, ПОЛУЧЕННОЙ ОТ ЛЮМИНАЛЬНОГО В HER2-НЕГАТИВНОГО ПОДТИПА РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А.С. Могиленских^{1,2}, Ф.А. Фадеев^{1,2}, С.В. Сазонов^{1,2}, С.М. Демидов^{1,2}

¹ГАОУ СО Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург;

²ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург
e-mail: annasajler@yandex.ru

Ключевые слова: тамоксифен, люминальный В HER-2 негативный подтип, первичная культура клеток рака молочной железы

Введение. В экспериментальных работах обнаружен широкий спектр мишеней тамоксифена, не связанных с его взаимодействием с рецепторами эстрогенов (ER). Поскольку рак молочной железы представляет собой гетерогенное заболевание, включающее несколько молекулярно-биологических подтипов, то среди подтипов могут быть различия в механизмах, ответственных за инициацию опухоли, метастазирование и терапевтический ответ.

Цель исследования – изучить влияние концентраций тамоксифена на клеточный рост и старение в первичной культуре, полученной от образца люминального В HER2⁻.

Материалы и методы. Для получения культуры образец измельчали, помещали в смесь ферментов коллагеназа-гиалуронидаза и раствор DMEM/F-12 в термостат (37°C). Полученную взвесь центрифугировали при 0,8 RPM (30 с), супернатант сливали, осадок последовательно ресуспендировали с трипсином, диспазой, ДНКазой. Смесь центрифугировали при 1,4 RPM (5 мин). Клетки ресуспендировали в питательной среде MammoCult™. Затем высевали в 24-луночные планшеты на 3 сут и добавляли препарат тамоксифен в возрастающем количестве: 2,5; 5; 10 мкл (антиэстроген, (Z)-2-[4-(1,2-дифенил-1-бутенил)-фенокси]-N,N-диметилэтанамин).

Уровень экспрессии рецепторов оценивался с помощью антител к ER, определялся индекс Ki-67. Оценку уровня осуществляли с помощью проточного цитофлуориметра Navios 10. Окрашивание DAPI, а также обнаружение старения с помощью β -галактозидазы (набор Senescence Detection Kit) выполняли в соответствии с протоколами от производителя. Подсчет клеток произведен в 5 полях зрения в каждой лунке.

Результаты. При исследовании культуры методом проточной цитометрии обнаружен высокий процент клеток, экспрессирующих ER, – 69,9 % и низкий индекс клеточной пролиферации Ki-67 – 5 %.

При подсчете клеток наблюдалось значимое снижение среднего количества клеток во всех лунках (171 ± 40) и увеличение их размеров в группе (1241 ± 192 пкс), на которую воздействовал препарат в максимальной концентрации, по сравнению с контролем, количество клеток – 2890 ± 740 , размеры – 410 ± 48 пкс.

При оценке клеточного старения в контроле обнаружилось 5 % клеток с положительной реакцией на β -галактозидазу, тогда как при максимальной концентрации тамоксифена доля позитивных клеток составила 58 %.

Заключение. Обнаружено, что тамоксифен обладает цитостатическим эффектом и запускает механизм клеточного старения в первичной культуре, полученной от образца люминального В HER2⁻.

ОЦЕНКА СИНЕРГЕТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ВОРИНОСТАТА И ДОКСОРУБИЦИНА НА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НСС-1954

М.Р. Моллаева, Э.И. Хакимова, Н.Г. Яббаров, М.Б. Сокол,
М.В. Чиркина, Е.Д. Никольская

ФГБУН «Институт биохимической физики
им. Н.М. Эмануэля РАН», Москва
e-mail: mollaevamariia@gmail.com

Ключевые слова: рак молочной железы, доксорубин, вориностат, апоптоз

Введение. Применение комбинированной химиотерапии в лечении злокачественных новообразований позволяет специфически ингибировать пролиферацию опухолевых клеток за счет синергетического или аддитивного эффекта препаратов. Доксорубин (ДОКС) часто применяется в комбинированной терапии, однако возникающая устойчивость опухолевых клеток к ДОКС может снижать эффективность лечения. Ранее нами было показано, что совместное использование вориностата (ВСТ) с ДОКС приводит к снижению выживаемости клеток НСС-1954 за счет синергетического эффекта комбинации.

Цель исследования – оценка влияния комбинации ВСТ/ДОКС на функциональную активность клеток НСС-1954.

Материалы и методы. Уровень внутриклеточного кальция и потенциал мембраны митохондрий после инкубации с ВСТ, ДОКС и комбинацией (соотношение ВСТ к ДОКС составило 30:1) определяли с использованием коммерческих наборов с помощью проточного цитофлуориметра. Уровень экспрессии апоптоз-регулирующих белков Вах и каспазы-3 после комбинированной терапии оценивали методом вестерн-блоттинга.

Результаты. Выявлено, что комбинация ВСТ/ДОКС снижала потенциал мембраны митохондрий, что свидетельствует о повреждении митохондрий. Комбинация ВСТ/ДОКС стимулировала более выраженное высвобождение кальция – Ca^{2+} в клетках, чем ВСТ или ДОКС по отдельности. После инкубации клеток с ДОКС наблюдалось значительное увеличение экспрессии Вах и каспазы-3, подтверждающее активацию апоптотического пути гибели клеток. После инкубации с ВСТ и комбинацией ВСТ/ДОКС уровни Вах и каспазы-3 были значительно ниже, что может указывать на вовлечение альтернативного пути гибели клеток. Таким образом, была выявлена корреляция между повышением внутриклеточного уровня Ca^{2+} и снижением потенциала мембраны митохондрий, что может свидетельствовать о нарушении кальциевого гомеостаза и последующем повреждении митохондрий.

Заключение. Комбинация ВСТ/ДОКС продемонстрировала высокий терапевтический потенциал за счет изменения внутриклеточного уровня Ca^{2+} и индукции стресса эндоплазматического ретикулума, которые приводили к гибели клеток НСС-1954.

Исследование выполнено за счет гранта РФФ
№ 22-25-00293.

РИСК-АДАПТИРОВАННАЯ СТРАТИФИКАЦИЯ, ЛЕЧЕНИЕ И СТАБИЛИЗАЦИЯ МУЛЬТИФОКАЛЬНОГО РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ГРУППЫ ВЫСОКОГО РИСКА С ПРИМЕНЕНИЕМ МРТ, ФДГ-ПЭТ, РАДИКАЛЬНОЙ ПРОСТАТЭКТОМИИ, АДОПТИВНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ И ГОРМОНАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ

Д.А. Мурашко^{1,2}, Е.А. Бардина³, А.А. Иванов⁴,
К.Е. Чеджемов⁵, Ж.В. Шароян⁶, К.Н. Мелкова⁶,
А.Е. Панкратов⁷

¹АНО «Межотраслевой исследовательский центр», Москва;

²Объединенный институт ядерных исследований, Дубна;

³ГБУЗ г. Москвы «ГКБ им. С.И. Спасокукоцкого ДЗМ»,
Москва;

⁴ООО «Клиника вашего здоровья», Одинцово;

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

⁶ООО «Компас здоровья», Москва;

⁷ООО «ПЭТ-Технолоджи», Москва
e-mail: murashko.dmitrij@gmail.com

Ключевые слова: рак предстательной железы, магнитно-резонансная томография предстательной железы, позитронно-эмиссионная томография предстательной железы, радиотерапия, иммунотерапия

Введение. Мультифокальный рост рака предстательной железы (РПЖ) регистрируется в 50–76 % всех случаев при проведении радикальной простатэктомии, но клиническое и прогностическое значение этого

явления до сих пор неясно. Используемые подходы биопсии и выбора тактики консервативной гормональной, лучевой и химиотерапии в случае стратификации в группу высокого риска сегодня являются стандартными. В связи с этим применение дополнительной визуализации при риск-адаптированной стратификации и апробация новых подходов с целью улучшения результатов лечения РПЖ является актуальной задачей.

Цель исследования – применение максимально возможной визуализации для риск-адаптированной стратификации и иммунологических подходов клеточной терапии для стабилизации РПЖ на примере клинического случая.

Материалы и методы. Стратификацию и лечение выполняли по стандартному протоколу с расширением методов визуализации (магнитно-резонансная томография (МРТ) 3,0 Тл [«Патеро Клиник», Москва], позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) с фтордезоксиглюкозой (ФДГ) [«ПЭТ-Технолоджи», Москва]), применением радикальной простатэктомии, адоптивной иммунотерапии, планируемой (но нереализованной) адьювантной радиотерапии, гормональной терапии.

Результаты. Пациент 70 лет ECOG 0, KPS 100, поступил с предварительным диагнозом РПЖ. При проведении МРТ 3,0 Тл зарегистрировано билатеральное поражение с проростом параректальной клетчатки и поражение лимфатических узлов. Первичные узлы РПЖ и лимфатические узлы были ФДГ-негативными при проведении ФДГ ПЭТ, но был визуализирован узел в плевре >2 см с высоким ИН (>15). После дообследований с учетом уровня ПСА >40 пациент был стратифицирован в группу высокого риска согласно NCCN. Была проведена радикальная простатэктомия с лимфаденэктомией, получена ткань для проведения гистологического анализа. Учитывая послеоперационный уровень ПСА 0,2 и высокую вероятность рецидива, послеоперационный план лечения состоял из адьювантной радиотерапии и гормональной терапии соответственно протоколам, но учитывая ФДГ-позитивный узел в плевре сразу после операции была проведена адоптивная иммунотерапия, после чего уровень ПСА составил 0,008, и от проведения радиотерапии было решено отказаться, а узел в плевре на контрольной ПЭТ более не определялся. Пациент получил гормональную терапию по протоколу, по результатам контрольных обследований на протяжении 13 мес уровень ПСА составлял 0,000–0,008 (по данным нескольких референсных лабораторий), что вместе с результатами других контрольных обследований свидетельствует о ремиссии.

Заключение. Максимальная визуализация и новые подходы находят свое место в риск-адаптированной стратификации и лечении РПЖ, что должно далее исследоваться. Приведен клинический случай лечения пациента с бифокальным РПЖ и метастатическим поражением лимфатических узлов.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ STING И ОНКОСУПРЕССОРА P53 В ОТВЕТЕ КЛЕТКИ НА ЦИТОТОКСИЧЕСКИЙ СТРЕСС РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

И.А. Невзоров¹, Н.А. Барлев^{1,2}, А.А. Дакс¹

¹ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича», Москва
e-mail: nevzorovia10@gmail.com

Ключевые слова: STING, P53, цитотоксический стресс, апоптоз

Введение. Стимулятор генов интерферона (STING), кодируемый геном *TMEM173*, представляет собой сигнальный белок, который при распознавании чужеродной или поврежденной ДНК в цитоплазме запускает сигнальный каскад, активирующий экспрессию многочисленных провоспалительных генов. В ряде исследований показано, что при альтернативной активации STING способен принимать участие в других клеточных процессах, таких как пролиферация, регуляция клеточного цикла, опухолевая трансформация и апоптоз. Известно, что одним из возможных условий регуляции апоптоза белками STING-каскада является цитотоксический стресс.

STING-каскад активирует регуляторы интерферона 3 и 7 – IRF3 и IRF7 соответственно. Являясь транскрипционными факторами, IRF3 и IRF7 активируют экспрессию генов иммунного ответа и ряда других мишеней. Мы предположили, что данные факторы могут влиять на экспрессию генов, участвующих в регуляции запрограммированной клеточной гибели.

Транскрипционный фактор p53 является одним из самых известных белков – регуляторов апоптоза. Поскольку гены, кодирующие как *TP53*, так и его мишени, потенциально регулируются IRF3 и IRF7, мы предполагаем, что STING-путь может принимать участие в координации проапоптотической активности белка p53.

Цель исследования – анализ возможных путей участия IRF3/7 в проапоптотическом ответе, в том числе при онкологических заболеваниях, а также оценка влияния белка p53 на активацию STING-пути во время цитотоксического стресса различного генеза.

Материалы и методы. Выбор генов-мишеней для анализа осуществлялся на основании литературных данных, при помощи программного обеспечения MEME suite проведен сравнительный анализ 131 энхансерного и промоторного региона проапоптотических генов и 66 аналогичных регионов антиапоптотических генов, для которых в общей сложности известно 59 сайтов связывания транскрипционными факторами IRF3 или IRF7.

Для исследования использовали клеточные линии H1299 и MCF7 с различным статусом белка p53.

Цитотоксический стресс в клетках был вызван при помощи митохондриальных блокаторов. Оценка активации участников STING-каскада и про- и антиапоптотических генов производилась при помощи методов вестерн-блота и полимеразной цепной реакции в реальном времени.

Результаты. В результате сравнительного анализа промоторных и энхансерных областей всех исследованных генов определены 4 консенсусные последовательности, распознаваемые транскрипционными факторами IRF3 и IRF7. Для проапоптотических генов было 5 таких сайтов связывания, в то время как для антиапоптотических генов таких сайтов было 10.

Мы также оценили влияние цитотоксического стресса, вызванного митохондриальными блокаторами, на активацию белков STING-каскада и экспрессию ряда проапоптотических и антиапоптотических генов-мишеней IRF3.

Заключение. Полученные данные позволяют высказать предположение о возможном влиянии транскрипционных факторов IRF3 и IRF7 на регуляцию про- и антиапоптотических генов в условиях цитотоксического стресса различного генеза.

Поддержано грантом РФФ № 19-75-10059.

НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ 3-ГИДРОКСИХИНАЗОЛИНА, ИНДУЦИРУЮЩИЕ ФЕРРОПТОЗ В КЛЕТКАХ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

В.Н. Осипов, А.А. Варганян, Д.В. Гусев, Л.М. Борисова

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава
России, Москва
e-mail: ovn65@yandex.ru

Ключевые слова: НСТ-116 и DLD-1, производные 3-гидроксихиназолина, рак толстой кишки

Введение. Препараты для лечения колоректального рака эффективны на ранних стадиях заболевания, но при повторных циклах лечения опухоль неизбежно становится резистентной к ним. Индукция ферроптоза, железозависимого типа гибели клеток, может стать многообещающей стратегией для лечения КРР.

Цель исследования — изучить индукцию ферроптоза в клетках рака толстой кишки (РТК) НСТ-116 и DLD-1 новыми производными хиринола, синтезированными в НИИ ЭДито ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Материалы и методы. Исследования *in vitro* проведены на клеточных линиях РТК НСТ-116 и DLD-1. В экспериментах использовали 2D-культивирование клеток, МТТ-тест, иммуноцитохимию, фазово-контрастную и флуоресцентную микроскопию. Структуру полученных соединений охарактеризовали при помощи ядерного магнитного резонанса Н и масс-спектрометрии. Чистота всех соединений была более 95 %.

Результаты. Исследованы 7 новых производных хиринола и их способность индуцировать ферроптоз в клетках РТК. Гибель опухолевых клеток по типу ферроптоза идентифицировали по уровню перекисного окисления липидов при концентрациях 1/3 IC₅₀. Уровень перекисного окисления липидов в клетках НСТ-116, индуцируемый соединением (1), приближался к активности референсного соединения эрастина при 1/3 IC₅₀, активность остальных шести производных хиринола составляла 45–60 % активности эрастина. Картина существенно менялась при исследовании индукции ферроптоза соединениями 1–7 в клетках DLD-1. Уровень перекисного окисления, индуцируемый соединениями 2 и 6 в клетках DLD-1, превышал активность эрастина.

Заключение. Полученные предварительные результаты позволяют инициировать исследование противоопухолевой активности новых соединений на экспериментальной модели РТК на животных, а также дальнейший поиск соединений, индуцирующих ферроптоз в опухолевых клетках.

ДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНАЯ ТЕРАПИЯ ГЛИОМЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА

Г.В. Павлова¹⁻³, В.А. Колесникова¹, Д.Ю. Усачев²,
А.М. Копылов⁴

¹ФГБУН «Институт высшей нервной деятельности
и нейрофизиологии РАН», Москва;

²ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко»
Минздрава России,
Москва;

³ФГАУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава
России (Сеченовский Университет), Москва;

⁴ФГБОУ ВО «Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова», Москва
e-mail: lkorochkin@mail.ru

Ключевые слова: дифференцировочная терапия, глиома головного мозга

Введение. Глиома состоит из опухолевых стволовых клеток и их «дочерних опухолевых клеток» — незрелых клеток-предшественников.

Цель исследования — используя цитостатическое воздействие, стимулировать «созревание» опухолевых клеток, что должно привести к потере их пролиферативного потенциала, в конечном итоге — создание коктейля факторов для дифференцировочной терапии глиомы человека.

Материалы и методы. Клеточные культуры глиом пациентов, аптамеры, малые молекулы, ПЦР-РВ, иммуноцитохимия, МТТ, xCELLigence S16, масс-спектрометрия, определение аффинности, анализ на апоптоз.

Результаты. Нами предложен принципиально новый подход к лечению глиомы — «дифференцировочная терапия», который основан на цитостатическом

воздействии на клетки аптамера biG3T, способного блокировать пролиферацию опухолевых клеток, в комбинации с последующим добавлением молекул-индукторов, управляющих каскадами нейрогенеза, — SB431542, LDN-193189, Purmorphamine, BDNF. Аптамер bi-(AID-1-T) обладает цитостатическим действием и, останавливая деление опухолевых клеток на некоторое время, позволяет опухолевой клетке стать чувствительной к другим воздействиям. При временном снижении пролиферативной активности опухолевых клеток после воздействия аптамера молекулы-индукторы способны направить дифференцировку опухолевых клеток в зрелое состояние. Дифференцировочная терапия оказывается эффективной и для опухолевых стволовых Nestin, PROM1 (CD133) — позитивных клеток, устойчивых к химио- и лучевой терапии. Исследования на клеточных культурах глиом пациентов высокой степени злокачественности показали эффективность подобного подхода *in vitro*. Сформировав оптимальную и эффективную комбинацию аптамера и факторов, мы провели исследования *in vivo* с использованием животной модели (крыса) с имплантированной тканевой глиобластомой 101/8. Нами обнаружено, что при использовании комбинации факторов дифференцировочной терапии *in vivo* необходима корректировка введения факторов. Показано, что после корректировки последовательности катетерного введения факторов дифференцировочной терапии достигалось полное исчезновение опухоли либо размер ее оказывался незначителен. Пилотные исследования на животной модели с глиобластомой *in vivo* показали перспективность данного метода.

Заключение. Разработана технология последовательного воздействия на опухолевые клетки глиомы высокой степени злокачественности для достижения дифференцировки опухолевых клеток и стабильного снижения их пролиферативного потенциала. Результат подтвержден на моделях *in vitro* и *in vivo*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России (грант № 0751520211343).

МИКРОРНК КАК ЦЕЛЕВЫЕ МОЛЕКУЛЫ ТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ: ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Н.В. Палкина, Т.Г. Рукша

ФГБОУ ВО «КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого»
Минздрава России, Красноярск
e-mail: tatyana_ruksha@mail.ru

Ключевые слова: miR-204-5p, микроРНК, меланома

Введение. РНК-таргетинг как терапевтическое направление интенсивно изучается при различных типах онкологических заболеваний. Несмотря на ряд проблем, которые затрудняют разработку лекарственных препаратов на основе модуляции уровней микроРНК, таких как деградация нуклеазами, проблемы с достав-

кой внутрь клеток, сложности с адресной доставкой к необходимым клеткам и тканям, нежелательные побочные эффекты, а также токсичность, многочисленные эксперименты на клеточных культурах, животных моделях, а также доклинические и даже начальные этапы некоторых клинических испытаний демонстрируют то, что воздействие на клетку на основе регуляции экспрессии микроРНК представляет собой в целом эффективную стратегию и имеет большой потенциал для поддержки традиционных методов лечения, таких как хирургическое вмешательство, химио- и лучевая терапия.

Цель исследования — оценить влияние модуляции уровня экспрессии микроРНК miR-204-5p *in vivo* на прогрессирование перевиваемой мышшиной меланомы, а также на метастазирование, в частности на ремоделирование органов-мишеней, происходящее через изменение экспрессии ряда маркеров иммунного ответа, включающих лимфоциты CD8, CD3, CD45RO, FOXP3, а также оценить побочные и токсические явления при введении модулятора микроРНК на организм путем оценки уровней сывороточных маркеров воспаления, включая интерлейкины — IL-1 β , IL-6 и фактор некроза опухоли α в плазме.

Материалы и методы. Объект исследования — самки мышшей С67В16 с перевиваемой меланомой, методы — культивирование клеток, трансфекция, полимеразная цепная реакция в реальном времени, иммуногистохимический, иммуноферментный, статистические методы.

Результаты. После использования ингибитора miR-204-5p количество CD45RO-позитивных лимфоцитов, являющихся компонентом метастатических ниш в легких — преимущественном органе-мишени метастазирования меланомы, уменьшается, что связано с повышением уровня апоптоза в этих клетках.

Заключение. Модуляция уровня микроРНК miR-204-5p *in vivo* может быть рассмотрена как перспективное направление комбинированной терапии диссеминированной меланомы кожи.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ (проект № 19-15-00110П).

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КОНСЕРВАТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ НАЧАЛЬНОГО РАКА ЭНДОМЕТРИЯ

А.И. Пашов

ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет им. Иммануила Канта», Калининград
e-mail: pashov@mail.ru

Ключевые слова: иммуногистохимические маркеры ER, PR, Ki-67, Vcl-2, E-cadherin, атипичная гиперплазия эндометрия, высокодифференцированная эндометриоидная аденокарцинома тела матки, агонисты гонадолиберина, внутриматочная система с левоноргестрелом

Введение. Высокодифференцированная эндометриоидная аденокарцинома эндометрия в настоящее время уверенно занимает одну из первых позиций в структуре онкологической заболеваемости органов репродуктивной системы. Это является прямым следствием урбанизации, изменения образа жизни и питания, которые ассоциированы с увеличением распространенности метаболического синдрома.

Цель исследования — апробация алгоритмов комбинированного лечения агонистами гонадолиберина и внутриматочной системой, выделяющей левоноргестрел у группы женщин с нереализованной репродуктивной функцией и выявленными атипичической гиперплазией эндометрия и/или эндометриоидной аденокарциномой тела матки.

Материалы и методы. Ретроспективно оценены результаты лечения гормональными препаратами 52 пациенток репродуктивного возраста, которым был поставлен диагноз атипичической гиперплазии эндометрия ICD-O код 8380/2 ($n = 40, 77,1 \%$), и высококодифференцированной (Grade 1) эндометриоидной аденокарциномы тела матки, ICD-O код 8380/3 ($n = 12, 22,9 \%$). Исследована экспрессия иммуногистохимических (ИГХ) маркеров — ER, PR, Ki-67, Vcl-2, E-кадгерина в образцах эндометрия до и после лечения.

Результаты. Полный ответ на лечение был достигнут в 100 % случаев. В 22 (40,4 %) случаях наступила желанная спонтанная беременность. У пациенток, участвующих в исследовании в течение 15 лет, рецидива заболевания не выявлено, 5-летняя выживаемость составила 100 %. При исследовании ИГХ-маркеров были выявлены различия в их экспрессии в образцах эндометрия с атипичической гиперплазией эндометрия и эндометриоидной аденокарциномой тела матки. После проведенной консервативной гормональной терапии значения экспрессии Ki-67, Vcl-2, p53 снижались в 10–12 раз.

Заключение. Установлено, что оценка уровня половых значений экспрессии Ki-67, Vcl-2, p53 является информативным показателем для подбора персонализированной схемы консервативной гормональной терапии. В результате проведенного органосохраняющего лечения женщин с атипичической гиперплазией эндометрия и высококодифференцированной эндометриоидной аденокарциномой эндометрия IA-стадии без инвазии в миометрий удалось достигнуть успеха в реализации их детородной функции, что является конечным этапом медико-социальной реабилитации.

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ СЕЛЕНА, МЕДИ, ЦИНКА И МАРГАНЦА В ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТЕРАПИИ

Д.В. Петроченко, А.М. Быканова, В.В. Хвостовой,
И.В. Станоевич

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск
e-mail: petrochenko.dima@yandex.ru

Ключевые слова: рак желудка, микроэлементы, химиотерапия, онкология

Введение. Важнейшей частью комплексного лечения рака желудка (РЖ) является проведение противоопухолевой лекарственной терапии, однако анализ результатов значительного количества исследований подчеркивает значимость дисмикроэлементоза как в процессе канцерогенеза, так и опухолевой прогрессии. Селен, медь, цинк и марганец являются неотъемлемыми компонентами антиоксидантной защиты клеток, а также детоксикации ксенобиотиков, в том числе противоопухолевых лекарственных средств.

Цель исследования — определить содержание микроэлементов в динамике: селена, меди, цинка, марганца — в сыворотке крови больных РЖ до инициации, а также после 4-го курса полихимиотерапии (ПХТ).

Материалы и методы. Уровень содержания микроэлементов в плазме крови 100 больных, полученной до начала ПХТ, а также после 4-го курса ПХТ с диагнозом РЖ II–IV стадий опухолевого процесса, разных возрастных групп, определяли с помощью спектрометра индуктивно-связанной плазмы с масс-спектрометрическим детектированием Varian 810-MS. Статистический анализ полученных данных осуществлялся с применением статистического пакета Statistica 10. Нормальность распределения проверялась с помощью критерия Шапиро–Уилка. Количественные данные, которые не подчинялись закону нормального распределения, представлены в виде медианы и 1–3-го квартилей, нормально распределенные — в виде среднего и среднеквадратичного отклонения.

Результаты. В результате проведенных исследований установлено: содержание селена в плазме крови до лечения составило 130,66 [110,78; 152,51] мкг/л, после 4-го курса ПХТ — 161,78 ± 19,23 мкг/л; содержание меди до лечения 1008,54 ± 245,80 мкг/л, после 4-го курса ПХТ — 970,18 ± 259,11 мкг/л; содержание марганца до начала лечения 1,07 [0,90; 1,36] мкг/л, после 4-го курса ПХТ — 1,14 [0,89; 1,40] мкг/л; уровень цинка до начала лечения 778,74 ± 166,20 мкг/л и после 4-го курса ПХТ 727,20 ± 152,62 мкг/л соответственно.

Заключение. Уровень содержания меди и цинка у больных РЖ имеет тенденцию к снижению показателей после 4-го курса ПХТ, в то же время содержание селена и марганца в плазме крови стремится

к повышению показателей по мере увеличения курсов ПХТ.

ВЗАИМОРЕГУЛЯЦИЯ МЕТАЛЛОШАПЕРОНА АТОХ1 И ЦИКЛИНА D1 КРИТИЧЕСКИ ВАЖНА ДЛЯ ВЫЖИВАНИЯ ОПУХОЛЕЙ С ИНАКТИВИРОВАННЫМ TP53

С.С. Погодаева, А.В. Щербакова, Е.Ю. Платонова,
С.А. Цымбал, О.А. Кучур

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет ИТМО», Санкт-Петербург
e-mail: pogodaeva@scamt-itmo.ru

Ключевые слова: Atox1, циклин D1, опухолевые клетки, клеточная гибель, белок p53

Введение. Белок p53 – регулятор репарации и апоптоза, его мутации часто встречаются в различных видах опухолей, являясь причиной химиорезистентности. Это в том числе реализуется через модуляцию циклина D1 (CCND1), ответственного за G₁/S переход. Ранее нами было установлено, что p53 ингибирует активность Atox1, который является транскрипционным фактором циклина D1. С учетом схожих механизмов регуляции Atox1 и CCND1 зависимым от p53 образом, была выдвинута гипотеза о ключевой роли этих факторов в выживании опухолевых клеток.

Цель исследования – установить роль взаиморегуляции циклина D1 и Atox1 в процессах выживаемости опухолевых клеток с различным статусом TP53.

Материалы и методы. Клеточные линии альвеолярной (A549) и гепатоцеллюлярной (HepG2) карциномы человека дикого типа (WT) и с инактивированным TP53 (TP53KO). Для анализа транскрипционных изменений проводилась рт-полимеразная цепная реакция, индукции белка – иммуноблоттинг. Нокдаун генов проводили методом siRNA-трансфекции. Анализ клеточного цикла проводился с помощью проточной цитофлуориметрии.

Результаты. Установлено, что Atox1 и циклин D1 способны позитивно взаиморегулировать друг друга. Подавление Atox1 снижает экспрессию гена CCND1 и его продукта более чем в 3 раза. Аналогичные результаты получены при подавлении CCND1: снижение активности Atox1 в 2,5–3 раза. В клетках с TP53KO уровень Atox1 возрастает в 4 раза. При добавлении цитостатического препарата блеомицина (10 мкг/мл) наблюдается кратный рост индукции p53 и одновременное соразмерное подавление Atox1 и циклина D1. Для проверки гипотезы о регуляции белка Atox1 циклином D1 был использован препарат палбоциклиб – ингибитор функционального комплекса CCND1-CDK4/6. Как и в случае нокдауна, мы наблюдали снижение экспрессии Atox1 в 2–3 раза. Добавление блеомицина к клеткам с нокдауном Atox1 и CCND1 приводит к росту апоптотической фракции (subG1) до ~94 %.

Одиночная супрессия не приводила к значимой гибели клеток, что говорит о синергичной функции Atox1 и циклина D1.

Заключение. Впервые была установлена роль циклина D1 в позитивной регуляции металлошаперона Atox1 p53-зависимым образом. В отсутствие TP53 активность Atox1 и циклина D1 кратно растет, их одновременная супрессия приводит к гибели половины клеточной популяции, добавление блеомицина усиливает этот эффект до 94 %. Дальнейшее изучение механизмов регуляции Atox1 и его вклада в процессы апоптоза могут быть перспективны для терапии p53-негативных опухолей.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 22-24-00588).

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ЭКСПРЕССИИ PD-L1 КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ПРЕДИКТОРА ВЫЖИВАЕМОСТИ ПРИ РАКЕ ЖЕЛУДКА

Т.В. Полушкина¹, Т.Н. Сотникова¹, Н.В. Данилова²,
Д.В. Калинин³

¹ГБУЗ «ГКБ им. И.В. Давыдовского ДЗМ», Москва;

²медицинский научно-образовательный центр ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва;

³ФГБУ «МНИЦ хирургии им. А.В. Вишневского», Москва
e-mail: peperonya1173@yandex.ru

Ключевые слова: PD-L1, выживаемость, аденокарцинома желудка, клон SP263, клон SP142

Введение. Влияние экспрессии PD-L1 на прогноз у пациентов со злокачественными новообразованиями активно изучается в настоящее время. Данные об экспрессии PD-L1, выявленной клонами SP142 и SP263 (для препаратов атезолизумаб и дурвалумаб соответственно), в литературе единичны, а прогностическая роль экспрессии PD-L1 у пациентов, не получавших терапию ингибиторами контрольных точек иммунитета, не исследована.

Цель исследования – определить уровень экспрессии PD-L1 (клоны SP263 и SP142, Roche Ventana) в образцах диагностического и операционного материалов пациентов с верифицированным диагнозом рака желудка, не получавших адъювантную терапию ингибиторами контрольных точек иммунитета. Оценить влияние экспрессии иммуногистохимического маркера на общую выживаемость пациентов.

Материалы и методы. В исследование был включен 131 пациент в возрасте от 22 до 82 лет (средний возраст составил 62 года) с верифицированным диагнозом рака желудка. Антителами к PD-L1 SP263 были окрашены 127 образцов, антителами к PD-L1 SP142 – 126 образцов. Пациенты в изученной выборке не получали адъювантную терапию ингибиторами контрольных точек иммунитета. Экспрессия PD-L1 в каждом случае

оценивалась двумя методами: в клетках опухоли (отношение количества опухолевых клеток, демонстрирующих мембранное окрашивание любой степени и интенсивности к общему количеству опухолевых клеток, метод TPS – Tumor Proportion Score) и среди всех клеток (отношение количества окрашенных опухолевых и иммунных клеток (лимфоцитов, макрофагов) к общему числу опухолевых клеток (окрашенных и не окрашенных), умноженное на 100, – метод CPS – Combined Positive Score). Для оценки предикторов выживаемости использовалась многофакторная регрессионная модель Кокса с алгоритмом пошагового исключения Вальда.

Результаты. Общая 5-летняя выживаемость больных в группе PD-L1-негативных опухолей как для клона SP142, так и для клона SP263 составила 20,5 и 21,5 % соответственно, что было значительно ниже общей 5-летней выживаемости больных в группе PD-L1-позитивных опухолей, которая составила 50,0 и 40,0 % также для обоих клонов ($p = 0,027$). Увеличение экспрессии PD-L1 клона SP263, определенное как методом CPS, так и методом TPS, уменьшает вероятность летального исхода в 1,35 раза ($p = 0,02$) и в 1,61 раза ($p = 0,004$) соответственно. Увеличение экспрессии PD-L1 клона SP142, определенное методом CPS, уменьшает вероятность летального исхода в 1,54 раза ($p = 0,005$). Увеличение экспрессии PD-L1 клона SP142, определенное методом TPS, также уменьшает вероятность развития летального исхода в 2,13 раза, однако не достигает статистической значимости ($p = 0,07$).

Заключение. Выживаемость пациентов в группе PD-L1-позитивных опухолей значимо выше, чем у пациентов в группе PD-L1-негативных новообразований. Увеличение уровня экспрессии PD-L1 клонов SP263 и SP142 являются значимыми прогностическими признаками, уменьшающими вероятность летального исхода у пациентов, несмотря на отсутствие адъювантной терапии ингибиторами контрольных точек иммунитета.

РИДОСТИН ПРО В КАЧЕСТВЕ АДЪЮВАНТА ДЛЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ВАКЦИН

А.В. Пономарев¹, П.В. Царапаев¹, М.А. Барышников¹,
А.А. Рудакова¹, З.А. Соколова¹, Г.М. Левагина²,
Е.Д. Даниленко², В.С. Косоруков¹

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

²ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Бердск
e-mail: kl18546@yandex.ru

Ключевые слова: Ридостин Про, Poly(I:C), адъювант, пептидные противоопухолевые вакцины

Введение. Адъюванты включаются в составы вакцин, чтобы вызвать сильный и продолжительный иммунный ответ. Poly(I:C) (синтетический аналог вирусной дцРНК) часто применяется в качестве адъюванта противоопухолевых вакцин на мышиных моделях,

но его применение у людей имеет серьезные ограничения. В связи с этим актуальна потребность в сильном, но нетоксичном адъюванте. В ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» разработан препарат Ридостин Про (индуктор интерферона пролонгированного действия), состоящий из комплекса дву- и односпиральных РНК.

Цель исследования – оценить противоопухолевый эффект двух вакцин с одинаковым антигеном, но различающихся адъювантами Poly(I:C) или Ридостин Про), проанализировать способность адъювантов Ридостин Про и Poly(I:C) к антиген-специфическому праймированию Т-клеток.

Материалы и методы. На двух моделях опухолей проводили вакцинацию мышей с применением изучаемых адъювантов. Для меланомы B16-F10 антигеном служил пептид TRP2 180–188. Для лимфомы EG7, экспрессирующей овальбумин, антигеном был белок овальбумин. Противоопухолевый эффект оценивался по влиянию на скорость роста опухоли. Методом ELISPOT сравнили способность адъювантов Ридостин Про или Poly(I:C) вызывать специфический иммунный ответ к указанным антигенам.

Результаты. На модели B16-F104-кратная вакцинация TRP2 и адъювантами (2 введения до перевивки опухоли и 2 – после таковой) защищала мышей от образования опухоли. Мыши прожили более 100 дней. Терапевтическая 2-кратная вакцинация адъювантами и соответствующими антигенами приводила только к задержке роста опухоли на моделях B16-F10 и EG7. Ридостин Про и Poly(I:C) способствовали развитию специфического иммунитета к пептиду TRP2 и овальбумину примерно с равной эффективностью при иммунизации мышей без опухоли.

Заключение. Вакцина, содержащая Ридостин Про в качестве адъюванта, обладает противоопухолевым эффектом. Ридостин Про способен формировать специфический Т-клеточный ответ к изучаемым антигенам. В связи с этим Ридостин Про может оказаться эффективным адъювантом для пептидных противоопухолевых вакцин.

СВL0137 ПОДАВЛЯЕТ ЭКСПРЕССИЮ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА ВЕТ В КЛЕТКАХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

В.Г. Попова^{1,2}, В.П. Максимова¹, Е.С. Лылова¹,
А.Ю. Букина¹⁻³, М.Г. Якубовская^{1,2}, К.И. Кирсанов^{1,2}

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

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов
им. Патриса Лумумбы», Москва;

³ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический
университет», Москва
e-mail: nuarrbio@gmail.com

Ключевые слова: SVL0137, экспрессия ВЕТs, рак молочной железы

Введение. Белки семейства BET (BETs) — ключевые эпигенетические ферменты, которые играют важную роль в регуляции транскрипции. Гиперэкспрессия BETs является эпигенетической аберрацией и ассоциирована с прогрессией различных злокачественных новообразований, в том числе рака молочной железы (PMЖ). Ингибиторы BET активно исследуются в качестве агентов для терапии PMЖ как индивидуально, так и в комбинации. По результатам скрининга эпигенетических эффектов противоопухолевых препаратов, используемых в клинике или проходящих клинические испытания, для кураксина CBL0137 была продемонстрирована способность ингибировать экспрессию BETs в клетках HeLa T1.

Цель исследования — изучение влияния CBL0137 на уровень экспрессии BETs (BRD2, BRD3 и BRD4) и на кодирующие их гены в клетках PMЖ.

Материалы и методы. В исследовании использовали клетки 3 подтипов PMЖ — MCF7 (ER⁺, PR⁺, HER2⁻), MDA-MB-231 (ER⁻, PR⁻, HER2⁻) и SKBR3 (ER⁻, PR⁻, HER2⁺). С помощью МТТ-теста были определены нетоксичные концентрации CBL0137. Клетки обрабатывали CBL0137 (1 и 2 мкМ) в течение 24 ч и далее выделяли общую фракцию белка, тотальную РНК и проводили вестерн-блоттинг и полимеразную цепную реакцию в реальном времени. Статистический анализ данных проводили, используя однофакторный анализ ANOVA (при пороговом значении $p < 0,05$).

Результаты. Показано, что CBL0137 способен ингибировать экспрессию различных BETs в клетках MCF7 и MDA-MB-231. В клетках MCF7 при действии CBL0137 (2 мкМ) происходило снижение уровня белков BRD3 и BRD4 в 1,5 и 2,5 раза, а при действии 1 мкМ — снижение уровня BRD4 в 1,5 раза. В клетках MDA-MB-231 было продемонстрировано снижение количества BRD2, BRD3 и BRD4 более чем в 1,5 раза для CBL0137 (1 мкМ), и более чем в 2 раза — для CBL0137 (2 мкМ). В клетках SKBR3 изменений уровня экспрессии BETs при действии CBL0137 показано не было. Для всех клеточных линий было обнаружено увеличение экспрессии гена *BRD2* при действии CBL0137 (1 мкМ): в 1,9 раза (MCF7), в 2,2 раза (MDA-MB-231), в 2,8 раза (SKBR3). Для CBL0137 (1 мкМ) было показано повышение экспрессии гена *BRD4* после обработки клеток MCF7 и MDA-MB-231 в 2,7 и 2 раза соответственно. В клетках MCF7, обработанных CBL0137 (2 мкМ), наблюдалось снижение экспрессии BRD2 и BRD4 в 2,8 и 2,2 раза соответственно.

Заключение. Нами впервые была показана способность CBL0137 ингибировать экспрессию белков семейства BET *in vitro* на клетках PMЖ с подтипами ER⁺, PR⁺, HER2⁻ и ER⁻, PR⁻, HER2⁻. При этом, по всей видимости, происходит ингибирование на уровне белка, а не на уровне РНК. Таким образом, CBL0137 является потенциальным ингибитором BETs, что делает его интересным объектом для анализа противоопу-

холевой активности в отношении данных подтипов PMЖ.

Исследование выполнено при финансировании РФФ (грант № 21-75-10163).

ОЦЕНКА ИНГИБИРОВАНИЯ РОСТА КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПУТЕМ БЛОКИРОВАНИЯ VEGFR-1 МОНОКЛОНАЛЬНЫМИ АНТИТЕЛАМИ

А.С. Потысьева^{1,2}, М.С. Биджиева^{1,2}, Л.А.-А. Гараева^{1,2},
Е.Д. Путьевич^{1,2}, С.С. Емельянова¹, Л.А. Соломина^{1,2},
В.С. Бурдаков¹, Н.А. Верлов¹, А.В. Жахов¹,
А.Л. Коневега^{1,2}, Т.А. Штам^{1,2}

¹ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский Институт», Гатчина;

²ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», Санкт-Петербург
e-mail: alina.potyseva@gmail.com

Ключевые слова: VEGFR-1, моноклональные антитела, рак молочной железы

Введение. В современной литературе VEGFR-1 — рецептор фактора роста эндотелия сосудов, описывается как перспективная мишень для противоопухолевой терапии.

Цель исследования — оценить перспективность использования моноклональных антител к VEGFR-1 на клеточных культурах рака молочной железы (PMЖ) *in vitro*.

Материалы и методы. Моноклональные антитела к человеческому рекомбинантному VEGFR-1 были получены из асцитической жидкости мышей BALB/C, привитых гибридами. Очистка антител производилась с помощью аффинной хроматографии с последующим диализом. Проверка активности антител проводилась с помощью непрямого иммуноферментного анализа.

Экспрессию генов VEGF-A и VEGFR-1 в клетках линий PMЖ человека, MCF-7 и MDA-MB-231 определяли с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени. Присутствие мембранного рецептора VEGFR-1 на поверхности или внутри клеток определяли методом проточной цитометрии, анализируя как иммортализованные TritonX-100 клетки, так и не обработанные клетки обеих линий.

Оценка эффективности ингибирования роста клеток при блокировании целевого рецептора моноклональными антителами производилась с помощью системы xCELLingence. Произведена оценка ингибирования роста клеток при конкурентном связывании препарата Avastin с VEGF-A в клеточной среде.

Результаты. В ходе работы были успешно получены и выделены с помощью хроматографии моноклональные антитела к VEGFR-1. По результатам иммуноферментного анализа были отобраны два наиболее аффин-

ных клон антител. Отобранные моноклональные антитела успешно связываются с антигеном VEGFR-1, уровень экспрессии которого по данным полимеразной цепной реакции в реальном времени значителен в обеих линиях РМЖ. Однако по результатам цитометрии мембранная форма рецептора VEGFR-1 присутствует на поверхности клеток MDA-MB-231, в то время как для линии MCF-7 большая часть белка выявляется антителами внутри клеток. На обеих клеточных линиях была протестирована иммунотерапевтическая схема лечения с использованием авастина, связывающего VEGF, и отобранных моноклональных антител к рецептору VEGFR-1. Авастин незначительно замедлял рост культур MDA-MB-231 и MCF-7. Использование антител, связывающих рецептор VEGFR-1, не влияло на рост культуры MCF-7 и значительно подавляло рост линии MDA-MB-231, что может быть связано с наличием антигена VEGFR-1 на поверхности этих клеток.

Заключение. Полученные в ходе работы моноклональные антитела имеют сродство к рецептору VEGFR-1 и эффективно ингибируют рост клеток РМЖ MDA-MB-231 при связывании.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России (проект № 075-15-2021-1360).

ЭКСТРАКЛЕТОЧНЫЕ ВЕЗИКУЛЫ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ КАК ДОСТАВЩИКИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

Е.Д. Путевич^{1,3}, Л. А.-А. Гараева^{1,3}, Е.А. Толстыко¹,
А.С. Спицына¹, С.С. Емельянова¹, Л.А. Соломина^{1,3},
Е.Ю. Комарова², И.А. Сизова¹, Т.А. Штам^{1,2}

¹ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский Институт», Гатчина;

²ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург;

³ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», Санкт-Петербург
e-mail: putevich_ed@pnpi.nrcki.ru

Ключевые слова: экстраклеточные везикулы, транспорт лекарственных веществ, белок HSP70, микроводоросли

Введение. Экстраклеточные везикулы (ЭВ) – наноразмерные частицы, окруженные липидным бислоем, переносящие белки и нуклеиновые кислоты; ЭВ, в том числе и из растительных источников, рассматриваются как перспективные доставщики экзо- и эндогенных биомолекул для противоопухолевой терапии. Микроводоросли являются многообещающими продуцентами ЭВ растительного происхождения, поскольку для них характерен быстрый рост и высокая плотность, а также условия их культивирования могут быть оптимизированы и стандартизированы.

Цель исследования – оценить перспективность ЭВ микроводорослей как доставщиков экзогенных

белковых молекул, обладающих противоопухолевой активностью, в клетки человека *in vitro*.

Материалы и методы. Для исследования ЭВ были выделены из микроводорослей *Chlorella vulgaris* и *Chlamydomonas* методом последовательного ультрацентрифугирования. Оценка количества секретируемых ЭВ в культуральной среде при различных условиях культивирования микроводорослей проводилась методом анализа траектории наночастиц. С помощью атомно-силовой и криоэлектронной микроскопии оценены форма, размер и морфология ЭВ. В качестве экзогенного белка, загружаемого в ЭВ микроводорослей, использовали молекулярный шаперон HSP70, обладающий противоопухолевым потенциалом, по данным литературы. ЭВ нагружались флуоресцентно меченным белком HSP70-BPY методом воздействия ультразвуком. Эффективность доставки экзогенного белка с помощью ЭВ к клеткам человека оценивалась с помощью проточной цитометрии.

Результаты. В ходе работы были оптимизированы условия роста микроводорослей *Chlorella vulgaris* и *Chlamydomonas*, обеспечивающие максимальное количество секретируемых ЭВ. Для ЭВ микроводорослей характерен размер 30–200 нм, преимущественно сферическая форма, однако встречаются ЭВ неправильной формы или имеющие несколько билипидных слоев. Экзогенный белок HSP70-BPY с помощью ЭВ микроводорослей был успешно доставлен к клеткам глиом (G1-Tr, A172), рака кишечника (Lovo, SW480) и аденокарциномы легкого (A549) *in vitro*.

Заключение. ЭВ микроводорослей являются перспективными доставщиками экзогенных биомолекул к опухолевым клеткам.

Работа выполнена при поддержке РФФ (проект № 19-74-20146-n).

КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ МЛУ-ШТАММОВ ЛЕЙКЕМИИ P388 МЫШЕЙ НИЗКИМИ ДОЗАМИ ЦИТОСТАТИКОВ И РЕДОКС-АКТИВНЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ

Т.А. Раевская¹, С.А. Гончарова¹, Т.Н. Богатыренко¹,
Н.В. Кандалинцева²

¹ФГБУН «ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН», Черноголовка;

²ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный педагогический университет», Новосибирск
e-mail: tara@icp.ac.ru

Ключевые слова: опухоли со множественной лекарственной устойчивостью, серосодержащий фенольный антиоксидант ТС-13, донор оксида азота, химиотерапия

Введение. Повышение внутриклеточных уровней АФК и усиление антиоксидантной (АО) системы

в опухолевых клетках способствуют опухолевой прогрессии и развитию лекарственной устойчивости (ЛУ). Инновационным подходом к лечению опухолей со множественной ЛУ (МЛУ) является поиск и использование редокс-активных соединений, способных нарушить окислительно-восстановительный баланс и вызвать гибель опухолевой клетки.

Цель исследования — оценить *in vivo* эффективность терапии комбинациями субтерапевтических доз цисплатина (ЦП) и циклофосфана (ЦФ) с серосодержащим фенольным АО 3-(3'-трет-бутил-4'-гидроксифенил)-пропилтиосульфонатом натрия (ТС-13) и донором оксида азота (NO) нитритом натрия (NaNO_2) на мышцах с двумя МЛУ-вариантами лимфолейкоза Р388 — штамме, устойчивом к рубомицину (Р388/руб), и штамме, устойчивом к адриамицину (Р388/адр).

Материалы и методы. ХТ проводили на мышцах-гибридах BDF1 с двумя МЛУ-опухольями Р388, полученными *in vivo* путем последовательной перевивки опухолевых клеток от мышей, которым вводили соответствующие цитостатики, постепенно увеличивая дозу препарата в ходе последующих трансплантационных генераций. Критерием эффективности ХТ служил показатель УПЖ (%) (увеличение средней продолжительности жизни леченых мышей по сравнению с контрольными). Терапевтические дозы определяются как 1/3 от LD_{50} и составляют для ЦФ 100 мг/кг, для ЦП — 4 мг/кг. В данном исследовании использовали субтерапевтические дозы: ЦФ — 20 мг/кг, ЦП — 0,6 и 1,2 мг/кг. ТС-13 вводили в дозе 30 мг/кг (1/8 от LD_{50}), NaNO_2 — 40 мг/кг.

Результаты. На штамме Р388/руб монотерапия ЦФ давала УПЖ 206 %, комбинация ЦФ + ТС-13 — 167 %, тогда как комбинация ЦФ + NaNO_2 повышала эффективность лечения на 32 % (с 206 до 238 %). Эффективность тройной комбинации была равна эффективности монотерапии ЦФ (206 и 207 %). На штамме Р388/руб результат использования комбинации ЦП + NaNO_2 (243 %) был сравним с эффектом одного ЦП в дозе 0,6 мг/кг (267 %) и был на 75 % эффективнее тройной комбинации ЦП + ТС-13 + NaNO_2 (168 %). Двойная комбинация ЦП + ТС-13 дала УПЖ 152 %. На штамме Р388/адр наиболее эффективной оказалась монотерапия как ЦП (в дозе 1,2 мг/кг) (УПЖ 170 %), так и ЦФ (191 %). Вторыми по эффективности стали двойные комбинации как ЦП + NaNO_2 (124 %), так и ЦФ + NaNO_2 (176 %). Тройная комбинация каждого препарата с ТС-13 и донором оксида азота оказалась менее эффективной (106 и 94 %), как и комбинация каждого из препаратов с одним АО ТС-13 (87 и 103 %).

Заключение. Ранее сообщалось, что одновременное применение АО ТС-13 и донора оксида азота NaNO_2 в комбинации с цитостатиками повышает показатель УПЖ мышцей с исходным лейкозом Р388 с 196 до 283 %. При лечении двух МЛУ-вариантов лимфолейкоза Р388 не обнаружено повышения эффективности при одновременном использовании

донора NO и АО ТС-13 в комбинациях с цитостатиками.

Работа выполнена в рамках государственного задания № АААА-А19-119071890015-6.

СИНТЕТИЧЕСКИЙ ГЕСТАГЕН С ХЕМОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩИМ ДЕЙСТВИЕМ

В.М. Ржезников¹, Т.А. Федотчева²

¹ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, Москва;

²ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

e-mail: ster37@yandex.ru

Ключевые слова: гестаген, бутагест, хемосенсибилизатор, механизм действия

Введение. Поиск новых хемосенсибилизаторов, усиливающих эффект противоопухолевых препаратов и применяемых с различными классами препаратов, остается чрезвычайно актуальным.

Цель исследования — изучить оригинальный синтетический гестаген бутагест (Пат. № 2292209) в качестве потенциального хемосенсибилизатора.

Материалы и методы. Исследованы комбинации бутагеста с доксорубицином (ДОКС), винкристином и этопозидом *in vitro* (опухолевые клетки MCF-7) и *in vivo* (лимфолейкоз мыши Р-388). Изучено его влияние на транспортную функцию Р-гр на клетках рака гортани человека Нер-2.

Результаты. Найдено, что бутагест, отличающийся от прогестерона и его известных аналогов наличием в кольце А при C_3 сложноэфирной группировки, проявляет хемосенсибилизирующий эффект, усиливая действие алкалоида винкрестина, антибиотика ДОКС и ингибитора топоизомеразы этопозиды в опытах как *in vitro*, так и *in vivo*. На опухолевых клетках MCF-7 он повышает эффективность ДОКС в диапазоне доз 10^{-5} – 10^{-7} на 30–47 %, а этопозиды максимально на 40 %. В опытах на лимфолейкозе мыши Р388 при совместном введении с винкристином бутагест усиливал его действие на 25 %.

На клетках рака гортани человека Нер-2 было изучено его влияние на транспортную функцию Р-гр и установлено по скорости выхода родамина 123, что его ингибирующий эффект втрое превышает действие хорошо известного верапамила. Дополнительным подтверждением указанного влияния является существенное (на 80 %) повышение под действие бутагеста накопление ДОКС в клетках MCF-7. Обнаруженное (совместно с Н.И. Федотчевой) уникальное, в сравнении с известными гестагенами, действие бутагеста на открытие митохондриальной поры привело к объяснению этого феномена его влиянием на аденилаттрансферазу. Ингибирование фермента, приводящее к блокировке открытия поры, происходит, как мы предположили, за счет диполь-дипольного взаимодействия карбонила

сложноэфирной группировки стероида с тиольными группами белка. В доказательство этого предположения подобный бутагесту эффект был получен с его аналогом, также содержащим сложноэфирную группировку в кольце А. Предложенный механизм ингибирования, как мы полагаем, может осуществляться и при взаимодействии с белками множественной лекарственной устойчивости, что и обуславливает хемосенсибилизирующий эффект бутагеста.

Закключение. Оригинальный синтетический гестаген бутагест представляется перспективным для применения в качестве хемосенсибилизатора в комбинациях с различными классами противоопухолевых препаратов.

МОДЕЛИРОВАНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ХРОНИЧЕСКОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА К ИНГИБИТОРАМ BCR-ABL В КОСТНОМ МОЗГЕ

А.М. Савин¹, Д.В. Козлов¹, А.Д. Кулиш¹, Э.Р. Гандалипов¹, В.В. Татарский², А.А. Штиль³

¹Институт SCAMT Университета ИТМО, Санкт-Петербург;

²ФГБУН «Институт биологии гена РАН», Москва;

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

e-mail: savin@scamt-itmo.ru

Ключевые слова: хронический миелоидный лейкоз, ингибиторы BCR-ABL, лекарственная устойчивость, костный мозг

Введение. Ингибиторы химерной тирозинкиназы BCR-ABL – важнейшие препараты для мишень-направленной терапии хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ). Микроокружение опухолевых клеток в костном мозге (внеклеточный матрикс, элементы стромы и др.) может способствовать «ускользанию» клеток ХМЛ от цитотоксического действия ингибиторов BCR-ABL.

Цель исследования – разработать модель «ниши» костного мозга для исследования устойчивости клеток ХМЛ к ингибиторам BCR-ABL.

Материалы и методы. Сокультивирование клеток костномозговой стромы (фибробласты линии HS5) с клетками ХМЛ (линия K562), адгезия клеток K562 к белкам межклеточного матрикса, тесты с резазурином и проточная цитофлуориметрия для установления механизма гибели клеток ХМЛ.

Результаты. Для моделирования костномозгового микроокружения использовали сгущение клеток K562 на агарозе, адгезию к межклеточному матриксу (фибронектин, Матригель) и сокультивирование со стромальными фибробластами HS5. Гибель клеток K562 индуцировали ингибиторами BCR-ABL 1-го (иматиниб) и 4-го (ваматиниб) поколений. В условиях культивирования вне микроокружения указанные соединения вызывали гибель клеток K562 ($275 \pm 33,4$ nM и $3,114 \pm 0,354$ nM). Адгезия к белкам межклеточного

матрикса и повышение плотности клеток не изменяли цитотоксичность ингибиторов BCR-ABL, в то время как сокультивирование клеток ХМЛ в кондиционированной среде после 72 ч культивирования демонстрировало увеличение резистентности K562 для обоих ингибиторов ($607,9 \pm 23,61$ nM и $51,05 \pm 5,4$ nM).

Закключение. Снижение цитотоксичности ингибиторов BCR-ABL при культивировании клеток ХМЛ в присутствии клеток микроокружения или в кондиционированной среде вызвано растворимыми факторами, секретируемыми костномозговыми фибробластами. Разработанная модель позволяет исследовать возможности влияний на секреторный профиль стромальных фибробластов для преодоления выживания клеток ХМЛ в костномозговом окружении.

НОВЫЕ СТЕРОИДНЫЕ 1,3,4-ТИАДИАЗИНЫ – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ КЛАСС АНТИПРОЛИФЕРАТИВНЫХ АГЕНТОВ

Д.И. Сальникова^{1,2}, Ф.Б. Богданов^{1,3}, О.С. Федянина², А.Ю. Чурсин², Д.Ю. Уваров², Ю.А. Волкова², И.В. Заварзин², А.М. Щербаков^{1,4}

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

²ФГБУН «Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского» РАН, Москва;

³ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва;

⁴ФГАОУ ВО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород
e-mail: dianasalnikova08@ya.ru

Ключевые слова: тиадиазины, рак молочной железы, стероиды, гормоны, антипролиферативный эффект, цисплатин, MCF7, MDA-MB-231

Введение. Гетероциклические производные стероидов, содержащие тиадиазиновый фрагмент, представляют высокий интерес для разработки антипролиферативных агентов. Введение в стероидный каркас гетероциклических фармакофорных фрагментов, в том числе тиадиазинов, перспективно для получения противоопухолевых препаратов нового поколения, характеризующихся увеличенной активностью и селективностью в отношении стероидных рецепторов, улучшенной метаболической стабильностью и высокой растворимостью в воде.

Цель исследования – направленный синтез новых 1,3,4-тиадиазиновых производных стероидов и анализ их антипролиферативной активности на клетках гормонозависимого и трижды негативного рака молочной железы (РМЖ).

Материалы и методы. Представительная серия (10 соединений) 1,3,4-тиадиазиновых производных стероидов эстранового и андростанового рядов получена гетероциклизацией в окислительных условиях формилзамещенных стероидов с функционализированными

тиогидразидами. Оценка антипролиферативной активности выполнена методом МТТ на линиях гормонозависимого (MCF7) и трижды негативного (MDA-MB-231) РМЖ (ТНРМЖ) человека.

Результаты. Стероидные 1,3,4-тиадиазины оказывали антипролиферативные эффекты в широком диапазоне концентраций, вызывая ингибирование роста клеток РМЖ на 20–87 %. Направленная модификация боковой цепи позволила получить селективные соединения. 2-Замещенные производные эстрогена, содержащие PO(NHtBu)₂ (соединение 1) и CONHTol (соединение 2) функциональные заместители в 1,3,4-тиадиазиновом цикле, подавляли рост гормонозависимых клеток РМЖ, при этом ТНРМЖ не демонстрировал чувствительности к этим соединениям. Лидерное соединение 1 показало активность, сравнимую с активностью цитостатического препарата цисплатина. Замена в структуре соединения 1 PO(NHtBu)₂ заместителя на ROTol₂ (соединение 3) повышала селективность к ТНРМЖ, гормоночувствительные клетки не отвечали на воздействия такого стероида.

Заключение. Получена новая серия стероидных 1,3,4-тиадиазинов, показывающая антипролиферативную активность в отношении клеток гормонозависимого и ТНРМЖ. Лидерное соединение 1 [2-(N,N'-дитрет-бутилфосфодиамида-1,3,4-тиадиазол)-3-гидрокси-17-кето-Δ^{1,3,5}(10)-эстратриен] представляет интерес для дальнейших разработок агентов, блокирующих рост гормонозависимого РМЖ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках проекта № 22-13-00161.

СИНТЕЗ, ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ И ПОИСК МОЛЕКУЛЯРНЫХ МИШЕНЕЙ НОВЫХ ВИНИЛСУЛЬФОАМИДОВ

Д.И. Сальникова^{1,2}, С.К. Крымов², Д.В. Сорокин^{1,3},
Л.Г. Деженкова², Г.И. Буравченко², Ф.Б. Богданов^{1,4},
А.М. Щербаков^{1,3}, А.Е. Щекотихин²

¹отдел экспериментальной биологии опухолей НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

²лаборатория химической трансформации антибиотиков ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе», Москва;

³ФГАУ ВО «Национальный исследовательский нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород;

⁴ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва
e-mail: dianasalnikova08@yandex.ru

Ключевые слова: опухолевые клетки, винилсульфонамиды, антиэстрогены

Введение. Винилсульфонамиды – перспективный класс для разработки таргетных противоопухолевых

агентов, в том числе направленных на селективное ингибирование мишеней в резистентных клетках.

Цель исследования – разработка винилсульфонамидов, оценка их антипролиферативной активности на клеточных линиях рака молочной железы (РМЖ) MCF7 и MCF7/HT, миелолейкоза К-562 и колоректального рака HCT-116; поиск молекулярных мишеней лидерного соединения.

Материалы и методы. Клеточные культуры (АТСС): РМЖ-чувствительный (MCF7) и резистентный к 4-гидрокситамоксифену (MCF7/HT, сублиния получена авторами), хронический миелолейкоз К-562 и К-562/4, колоректальный рак HCT-116. Строение синтезированных сульфонамидов подтверждено физико-химическими методами анализа (ЯМР ¹H и ¹³C, HRMS (ESI), PCA); чистота целевых соединений (>95 %) подтверждена высокоэффективной жидкостной хроматографией. Биологические методы: МТТ-тест, иммуноблоттинг.

Результаты. Акцепторы Михаэля были получены конденсацией производного метансульфонамида, имеющего активную метиленовую компоненту, с (гетеро-)ароматическими альдегидами и последующим удалением защитной группы. LCTA-3215, молекула-прототип серии, не имеющая фрагмент 1,2-ненасыщенного сульфонамида, оказалась неактивной на исследованных клеточных линиях (IC₅₀ >50 μM). Наиболее активное производное – целевой акцептор Михаэля – LCTA-3685: IC₅₀ = 2,0 μM (MCF7), 3,8 μM (MCF7/HT), 1,3 μM (К-562), 2,8 μM (К-562/4), 5,1 μM (HCT-116). Иммуноблоттинг показал дозозависимое (в концентрациях до 2,5 μM) снижение экспрессии GREB1 и антиэстрогенное действие LCTA-3685 на линии MCF7, тогда как соединение LCTA-3215 (негативный контроль) не влияло на эти показатели. Соединение LCTA-3685 снижало экспрессию рецептора андрогенов (AR) в клетках MCF7 в отличие от MCF7/HT. Как на гормоночувствительной (MCF7), так и на гормонорезистентной (MCF7/HT) линии соединение LCTA-3685 уменьшало экспрессию циклина D1, в негативном контроле уровень белка не изменялся. Соединение LCTA-3685 также снижало экспрессию CDK4 в клетках линии MCF7, на MCF7/HT эффект не был показан. В отличие от LCTA-3215, LCTA-3685 снижало экспрессию фосфорилированной киназы АКТ на линиях MCF7 и MCF7/HT. Соединение LCTA-3215 не вызывало накопление расщепленного PARP (маркер апоптоза) и не влияло на экспрессию Bcl-2 (антиапоптотический белок), тогда как его лидирующая модификация (LCTA-3685) приводила к расщеплению PARP в MCF7 и MCF7/HT и снижению экспрессии Bcl-2.

Заключение. Новый винилсульфонамид LCTA-3685 показал активность на гормоночувствительной и гормонорезистентной клеточных линиях в микромолярном диапазоне концентраций. Сульфонамиды – перспективный класс для развития селективных анти-

эстрогенов. Полученные результаты – основание для поиска синергетических комбинаций соединения-лигандера с препаратами, активными в отношении гормонорезистентной сублинии РМЖ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 20-13-00402).

ИССЛЕДОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ АВТОФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ТКАНЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЕТОДОМ FLIM ДЛЯ РАЗРАБОТКИ НОВОГО ПОДХОДА К ИНТРАОПЕРАЦИОННОЙ ДИАГНОСТИКЕ ГЛИОМ

Д.А. Сачкова^{1,2}, Е.Б. Киселева¹, А.С. Золотова¹,
Е.Л. Бедерина¹, Д.В. Южакова¹, В.И. Шеславский¹,
М.В. Ширманова¹, К.С. Яшин¹

¹ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Нижний Новгород;

²ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»,
Нижний Новгород

e-mail: sachkova.collins@gmail.com

Ключевые слова: флуоресцентный времяразрешенный имиджинг, оптические параметры, перитуморальные ткани головного мозга, глиома

Введение. Одна из ключевых проблем хирургии глиом – точность определения границ резекции. Перспективным инструментом для ее решения может выступать метод флуоресцентного времяразрешенного имиджинга (FLIM) на основе регистрации собственной флуоресценции тканей.

Цель исследования – изучить оптические параметры опухоли и перитуморальных тканей головного мозга с использованием FLIM макро- и микроскопии.

Материалы и методы. Исследования проводили на свежих образцах опухоли и перитуморальной ткани головного мозга, полученных в результате резекции у пациентов с глиомой (Grade II–IV) ($n = 15$). Визуализацию времени жизни автофлуоресценции в канале метаболического кофактора никотинамидадениндинуклеотида (фосфата) НАД(Ф)Н на макроуровне проводили с применением конфокального FLIM/PLIM макросканера (Becker&Nickl, Германия) (возб. 375 нм, рег. 435–485 нм), на микроуровне – с помощью лазерной сканирующей микроскопии на установке LSM880 (Carl Zeiss, Германия) с опцией FLIM (возб. 375 нм, рег. 435–485 нм).

Результаты. С помощью FLIM-макроимиджинга выявлено наличие эндогенного оптического контраста тканей нормального белого вещества головного мозга как с перитуморальной зоной, так и с опухолью. Показано, что перитуморальная зона отличалась более длинными значениями параметра среднего времени жизни автофлуоресценции τ_m НАД(Ф)Н по сравнению с белым веществом. Удлинение τ_m происходило за счет роста времени жизни длинной компоненты авто-

флуоресценции τ_2 . Касательно опухолевой ткани, глиома демонстрировала более низкие значения параметра τ_m по сравнению с нормальными тканями белого вещества мозга. Примечательно, что полученные значения τ_m НАД(Ф)Н тканей глиом пациентов показывали высокую внутри- и межопухольевую гетерогенность.

Для дальнейшей оценки внутриопухольевой гетерогенности метаболического профиля на клеточном уровне проведена оценка параметров автофлуоресценции первичных культур глиом пациентов методом FLIM-микроскопии. Показано, что для клеток глиом значения τ_m составляли 0,6–0,8 нс, τ_2 варьировало от 1,9 до 2,3 нс, а относительный вклад длинной компоненты α_2 изменялся от 22 до 25 %.

Заключение. Предварительные результаты показали, что FLIM может служить инновационным подходом для повышения эффективности интраоперационной диагностики глиальных опухолей.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 23-75-10068.

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНГИБИТОРОВ ТИРОЗИНКИНАЗ ПРИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЛЕГКОГО С НАЛИЧИЕМ МУТАЦИИ В ГЕНЕ EGFR

А.В. Селезнева

Академия постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА
России, Москва

e-mail: alinaselezneva15@yandex.ru

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, ингибиторы тирозинкиназ, резистентность, нежелательные явления

Введение. Таргетная терапия сумела оправдать себя в лечении немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) с мутацией в гене *EGFR*. Каждое последующее поколение ингибиторов тирозинкиназ (ИТК) является сильнее предыдущего и может справляться с приобретенной резистентностью.

Цель исследования – определить наилучший выбор тактики лечения пациентов с НМРЛ, имеющих положительный статус *EGFR*.

Материалы и методы. Проанализированы рандомизированные клинические исследования, в которые были включены пациенты с НМРЛ, все пациенты имели позитивный статус *EGFR*.

Результаты. В исследовании III фазы NEJGSG002 одна группа пациентов получала химиотерапию (ХТ) карбоплатином в комбинации с паклитакселом, другая – таргетную терапию гефитинибом. Медиана выживаемости без прогрессирования заболевания (ВБП) в группе гефитиниба составила 10,8 мес и 5,4 мес в группе ХТ ($p < 0,001$). В данном исследовании показана значительная польза в группе таргетной терапии

препаратами 1-го поколения у пациентов с НМРЛ и мутацией в гене *EGFR*. На смену препаратам 1-го поколения при наличии резистентности к gefитинибу разработаны ИТК 2-го поколения.

В исследование LUX–Lung 1 были отобраны пациенты с метастатическим НМРЛ *EGFR*⁺, ранее принимавшие gefитиниб или эрлотиниб. Пациенты рандомизированы на группу афатиниба и группу плацебо. Медиана ВВП заболевания в группе афатиниба была 3,3 мес, в группе плацебо – 1,1 мес ($p < 0,0001$).

Нежелательными явлениями (НЯ) в группе афатиниба были диарея (87 %), кожная токсичность (78 %). Эти же НЯ возникали в группе плацебо: в виде диареи составили 9 %, кожной токсичности – 16 %.

В исследовании III фазы ARCHER сравнивались препараты 1-го и 2-го поколений, а именно gefитиниб и дакомитиниб в 1-й линии терапии. Медиана ВВП в группе дакомитиниба составила 14,7 мес и 9,2 мес – в группе gefитиниба ($p < 0,0001$). НЯ III степени были кожная токсичность, которая составила 14 %, диарея и повышение печеночных трансаминаз у пациентов, получавших дакомитиниб. В группе gefитиниба НЯ в виде кожной токсичности не наблюдали. Зафиксировано 2 смертельных случая, связанных с лечением, в группе дакомитиниба.

Из-за серьезных побочных явлений терапия дакомитинибом остается возможным вариантом лечения у пациентов с НМРЛ. Учитывая прогрессирование заболевания на фоне ИТК 1-го и 2-го поколений из-за наличия вторичной мутации в гене *EGFR*, успешно применяются препараты 3-го поколения, такие как осимертиниб. На основании этого препараты 2-го поколения часто не используют для лечения рака легкого.

Заключение. Таргетная терапия в отличие от системной ХТ показывает успех в лечении пациентов с НМРЛ. Каждое последующее поколение ИТК доказывает свою эффективность в отношении выживаемости. Для наилучшего лечения НМРЛ с наличием мутации в гене *EGFR* применяется таргетная терапия с наименьшим количеством НЯ.

ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДЕНДРИТНОКЛЕТОЧНОЙ ВАКЦИНЫ НА ОСНОВЕ ФОТОИНДУЦИРОВАННЫХ ТЕТРААРИЛТЕТРАЦИАНОПОРФИРАЗИНАМИ КЛЕТОК НА МОДЕЛИ ГЛИОБЛАСТОМЫ МЫШИ

Е. Е. Слепцова¹, Т. С. Редькин¹, А. Р. Хузина¹, М. О. Савюк^{1,2},
Е. В. Кондакова¹, В. Д. Турубанова¹, Д. В. Крысько^{1,2}

¹НИИ нейронаук ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского», Нижний Новгород;
²лаборатория исследования и терапии гибели клеток (CDIT), кафедра анатомии и регенерации человека Гентского университета, Гент, Бельгия
e-mail: ees222@list.ru

Ключевые слова: терапевтическая дендритноклеточная вакцинация, клетки глиомы GL261, фотодинамическое воздействие, тетра(арил)тетрацианопорфиразины

Введение. Глиобластома остается самой распространенной и агрессивной злокачественной опухолью головного мозга с плохим прогнозом. Иммунитет на ранних стадиях заболевания отвечает за контроль развития рака, однако по мере прогрессирования опухолевые клетки становятся способными ускользать от этого надзора, а иммунные клетки не только не способны осуществлять контроль, но и начинают способствовать росту опухоли. Иммуноterapia рака – многообещающий способ уничтожения опухолевых клеток, позволяющий репрофилировать компоненты иммунной системы на противоопухолевую защиту. В предыдущих исследованиях уже было показано, что умирающие клетки глиомы GL261, подвергшиеся фотодинамическому воздействию с использованием порфиразинов обладают иммуногенным потенциалом: испускают молекулы DAMPs и способствуют активации и формированию адаптивного иммунного ответа. Активирующиеся в ответ на взаимодействия с умирающими клетками дендритные клетки (ДК) могут представлять опухолевый антиген Т-клеточному звену иммунитета.

Цель исследования – оценка эффективности терапевтической дендритноклеточной вакцинации на основе клеток глиомы GL261, подвергшихся фотодинамическому воздействию с использованием тетра(арил)тетрацианопорфиразинов, против глиомы мышей.

Материалы и методы. Для индукции иммуногенной клеточной гибели клетки подвергались фотодинамической терапии (ФДТ) с одним из двух фотосенсибилизаторов, тетра(арил)тетрацианопорфиразинами с разными боковыми заместителями, с 9-фенантренилом (pz I) или с 4-(4-фторбензиокси)фенилом (pz III). Для приготовления вакцины использовали ДК, изолированные из костного мозга мышей линии C57/Bl6J. ДК загружались лизатами – клетками GL261 после фотодинамической терапии с последующей обработкой шестью циклами «заморозки-оттаивания». Мышей иммунизировали трижды: на 2, 10 и 17-й дни после инокуляции жизнеспособных клеток GL261 в головной мозг.

Результаты. Показана эффективность терапевтической противоопухолевой иммунизации животных ДК, активированных иммуногенно-убитыми клетками. Выживаемость экспериментальных животных была выше, чем контрольных, а неврологические симптомы проявлялись не так выражено.

Заключение. Дендритноклеточная вакцина с использованием иммуногенно-убитых опухолевых клеток в качестве антигена обладает терапевтическим эффектом.

ТАРГЕТНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ ПРИ РАКЕ ЖЕЛУДКА, СВЯЗЬ С МОЛЕКУЛЯРНЫМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ ОПУХОЛИ И ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ ТЕРАПИИ

Л.В. Спирина^{1,2}, А.В. Августинович², С.Г. Афанасьев^{1,2},
С.В. Вторушин^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск;

²НИИ онкологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск
e-mail: spirinalvl@mail.ru

Ключевые слова: генетический ландшафт, таргетное секвенирование, опухоль желудка

Введение. Гетерогенность рака желудка является основной причиной развития неблагоприятного исхода заболевания.

Цель исследования – изучить связи генетического ландшафта опухоли желудка с эффективностью лечения.

Материалы и методы. В исследование включен 21 пациент с морфологически верифицированным диагнозом «рак желудка», у которых на этапе диагностики собраны биопсийные образцы. Больные получали комбинированное лечение по схеме FLOT с включением таргетных иммунопрепаратов. Таргетное секвенирование проводилось с использованием таргетной панели Opsonetix, состоящей из 48 генов. Экспрессия молекулярных маркеров оценивалась с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени.

Результаты. В результате проведенного исследования выявлено, что регрессия опухолевого процесса после проведенного комбинированного лечения наблюдалась у 14 (66,6 %) пациентов, у 5 (11,1 %) из которых полная регрессия. Стабилизация отмечена у 7 (33,6 %) больных. При анализе результатов таргетного секвенирования по 48 генам выявлены 6 (33,3 %) пациентов с отсутствием значимых маркеров, ассоциированных с ответом на терапию и с отсутствием генетических вариантов, имеющих отношение к фенотипу опухоли.

Из 14 пациентов с частичной регрессией выявлены 7 человек с наличием мутаций, ассоциированных с ответом на терапию и имеющих отношение к фенотипу опухоли (у 2 больных отмечены 2 мутации). Из 8 мутаций мутация *PI3K* ((chr3: g.178952085A>G, chr3:g.178936091G>A), ассоциированная с ответом на терапию, выявлена в 22,2 % случаев, мутация *TP53* – в 44,4 %, *PTEN* – в 11,1 %, *ERBB* – в 11,1 % и *MAPK* также в 11,1 % случаев.

При стабилизации у пациентов отмечены 11 мутаций, из них двойные мутации зарегистрированы у 4 человек. Зафиксированы следующие мутации: *KRAS* (chr12: g.25398284C>T) – в 9,0 % случаев, *PI3K* (chr3: g.178952085A>G, chr3: g.178936091G>A), ассоциированная с ответом на терапию, – в 18,2 %, *TP53* –

в 27,3 %, *PI3K* – в 9,0 %, *PTEN* – в 9,0 %, *SMAD4* – в 9,0 %, *CTNNB* – в 9,0 % случаев.

Отмечены биологические особенности опухоли, связанные с наличием мутаций, ассоциированных с ответом на терапию (при наличии мутации *PI3K* выявлено увеличение экспрессии *PD-1* в 5,6 раза). Установлено увеличение экспрессии *VEGFR2* в 2,8 раза в случае мутации *TP53*, а при мутации *PTEN* – рост экспрессии *mTOR* в 3,5 раза соответственно.

Заключение. Следовательно, лучший ответ на лечение отмечался у пациентов с отсутствием маркеров агрессивного роста. При этом менее значимый ответ на терапию (стабилизация процесса) отмечался у пациентов с наличием мутаций, ассоциированных с ответом на терапию и имеющих отношение к фенотипу опухоли, в том числе с наличием сочетанных мутаций. Выявлено изменение молекулярных характеристик опухоли, связанное с наличием мутаций в опухоли желудка.

РОЛЬ ДИМЕРИЗАЦИИ МОЛЕКУЛЫ БИСБЕНЗИМИДАЗОЛА В ИЗМЕНЕНИИ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ В ОТНОШЕНИИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ И ПРЕОДОЛЕНИИ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ НА ПРИМЕРЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ БИСБЕНЗИМИДАЗОЛ-ПИРРОЛОВ СЕРИИ DB2PY(N)

О.Ю. Сусова¹, С.Ш. Каршиева¹, Н.И. Моисеева¹,
Е.А. Зайцева¹, А.Ф. Аругюнян², К.В. Калабина¹,
Н.М. Смирнов², А.Л. Жузе²

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

²ФГБУН «Институт молекулярной биологии
им. В.А. Энгельгардта РАН», Москва
e-mail: susovaolga@gmail.com

Ключевые слова: бисбензимидазолы, взаимодействие с ДНК, цитотоксичность, множественная лекарственная устойчивость

Введение. Мультитаргетная терапия остается наиболее эффективным подходом в лечении онкологических заболеваний. Она может реализовываться через воздействие на главную мишень клетки – ДНК. Именно поэтому сохраняется интерес к созданию лекарств, направленных на повреждения функций ДНК в опухолевых клетках.

В настоящей работе синтезирована новая серия узкобороздочных лигандов, мономерных и димерных соединений DB2Py(*n*) (где *n* – количество метиленов в линкере) на основе красителя Hoechst 33258 и пирролкарбоксамидного мотива антибиотика дистамицина.

Цель исследования – оценить возможное изменение биологических свойств при конструировании

димерных молекул бисбензимидазола по сравнению с мономерными.

Материалы и методы. В исследование включено 4 новых синтезированных бисбензимидазола: мономеры MB2Py, MB2P (Ac) и димеры DB2Py(4), DB2Py (5). Методом МТТ-теста проводили анализ цитотоксичности (ЦТ), в том числе на клетках с фенотипом множественной лекарственной устойчивости (МЛУ). Осуществляли мониторинг роста клеток остеосаркомы U2OS в режиме реального времени с помощью системы RTCA iCELLigence. Исследовали возможность ингибировать топоизомеразу I. Связывание новых бисбензимидазолов с ДНК оценивали комплексом физико-химических методов: по спектрам поглощения, флуоресценции и кругового дихроизма.

Результаты. Физико-химическими методами показано взаимодействие новых веществ с узкой бороздкой ДНК. Димерные молекулы проявляли ингибирующее действие в отношении топоизомеразы I при более низких концентрациях, чем мономерные.

Димерные бисбензимидазолы демонстрировали повышение ЦТ в отношении опухолевых клеточных линий и первичной культуры глиобластомы. Рост клеток остеосаркомы под воздействием мономера MB2Py(Ac) и димера DB2Py(5) фиксировался в режиме реального времени в течение 3 сут. В диапазоне концентраций 20–100 мкМ димер был токсичнее мономера.

Мы доказали проникновение веществ в клеточное ядро с помощью флуоресцентной микроскопии. Тест на способность веществ преодолевать МЛУ, опосредованную гиперэкспрессией Р-гликопротеина, показал, что удвоение молекулы бисбензимидазола снижает возможность их накопления в клетке. Все новые соединения вызывали арест S-фазы клеточного цикла при концентрации 1 мкМ.

Заключение. Результаты экспериментов показали усиление связывания с ДНК димерных молекул по сравнению с мономерными, увеличение ЦТ, ингибирования топоизомеразы I и снижение способности преодолевать МЛУ. Новые бисбензимидазолы могут иметь значение при создании противоопухолевых лекарств, направленных на ДНК в качестве мишени опухолевой клетки.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 23-25-00373).

ЛИГАНДЫ G-КВАДРУПЛЕКСОВ НА ОСНОВЕ АНТРАХИНОАЗОЛОВ: ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ И МЕХАНИЗМЫ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ

А.С. Тихомиров¹, Д.В. Андреева¹, Т.С. Ведехина², А.С. Гостев^{1,3}, Л.Г. Деженкова¹, Ю.Л. Володина⁴, А.А. Маркова², А.М. Варижук², А.Е. Щекотихин¹

¹ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе», Москва;

²ФГБУ «ФНКЦ физико-химической медицины им. акад.

Ю.М. Лопухина» ФМБА России, Москва;

³ФГБОУ ВО «РХТУ им. Д.И. Менделеева», Москва;

⁴ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

e-mail: tikhomirov.chem@gmail.com

Ключевые слова: антрациклины, G-квадруплексы, ДНК, противоопухолевая активность

Введение. Гетероциклические производные антрахинона (гетероаренантрахиноны) перспективны для разработки новых противоопухолевых веществ, а варьирование их структуры способно изменять сродство к различным внутриклеточным мишеням, например двухцепочечной ДНК, топоизомеразам 1 и 2, деацетилазе Sirt1, протеинкиназам Aurora A и B и др. Для дальнейшего усовершенствования химиотерапевтических средств были получены новые гетероаренантрахиноны с 3 гетероатомами, содержащими в боковых цепях диаминоалкиламинозаместители (аналоги препарата митоксантрон).

Цель работы — выявить механизмы гибели опухолевых клеток при действии соединений-лидеров на основе триазол-, тиadiaзол-, селенодиазол-конденсированных антрахинонов.

Материалы и методы. Для получения антрахиноназолов разработана оригинальная схема синтеза. Антипролиферативная активность исследована с помощью МТТ-теста на клетках колоректальной аденокарциномы HCT116, аденокарциномы молочной железы MDA-MB-231, лейкоза K562 и неопухолевых постнатальных фибробластах человека hFB-hTERT6. Стабилизационный эффект в отношении дуплекса и G-квадруплекс-образующих структур ДНК оценивали методом FRET-плавления. Внутриклеточное накопление, клеточный цикл и апоптоз исследовали методом проточной цитометрии.

Результаты. Наибольшую антипролиферативную активность в отношении опухолевых клеток проявили антрациа- и антраселенодиазолы LXТА-3567 и LXТА-3570 (IC₅₀ 0,6–4,0 мкМ). Избирательность цитотоксичности этих соединений в отношении неопухолевых клеток превосходила препарат сравнения доксорубин. Соединение LXТА-3570 (5–10 мкМ) вызывало блок клеточного цикла в фазах G1 и S и последующий апоптоз клеток K562. Обнаружено, что соединения LXТА-3567 и LXТА-3570 обладают высокими значениями стабилизационного сдвига ($\Delta T_m = 16–33^\circ\text{C}$) преимущественно в отношении теломерных G-квадруплексов 22AG и 22СТА и имеют селективность по отношению к дуплексу ДНК. Интересно отметить, что аналоги на основе антрациазола обладают существенно меньшими величинами ΔT_m , а также практически не проникают в опухолевые клетки.

Заключение. Аннелирование тиadiaзольного и селенодиазольного гетероциклов к антрахинону привело к появлению новых соединений — лигандов G-квадруплексных структур нуклеиновых кислот с противо-

опухолевыми свойствами, перспективных для создания новых противоопухолевых препаратов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РНФ № 22-23-01073.

ПОЛИИНОЗИНОВАЯ-ПОЛИЦИТИДИЛОВАЯ КИСЛОТА (POLY I:C) КАК ФАКТОР СТИМУЛЯЦИИ СОЗРЕВАНИЯ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК

Ф.А. Фадеев, А.С. Могиленских, О.В. Мадиярова

ГИАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»,
Екатеринбург
e-mail: fdf79@mail.ru

Ключевые слова: дендритные клетки, стимуляция созревания, poly I:C, иммунофенотип

Введение. Дендритные клетки (ДК), полученные *in vitro*, используются для персонализированной иммунотерапии онкологических заболеваний. Повышение противоопухолевого эффекта ДК может быть достигнуто за счет поиска оптимального способа стимуляции их созревания, позволяющего получить клетки с наиболее подходящим для активации Т-лимфоцитов фенотипом.

Созревание ДК *in vitro* инициируется цитокинами или лигандами TLR. Для стимуляции созревания может использоваться полиинозиновая – полицитидиловая кислота (poly I:C), которая связывается с TLR3, имитируя его лиганд, вирусную двухцепочечную РНК.

Цель исследования – оценить эффект от применения poly I:C в качестве средства для стимуляции созревания ДК.

Материалы и методы. ДК получали из моноцитов, выделенных из донорской крови. ДК дифференцировались из моноцитов в среде с добавлением гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора и интерлейкина – IL-4. К полученным незрелым ДК добавляли смеси для стимуляции созревания: 1) цитокиновый коктейль из TNF, IL-1, IL-6 и PGE₂; 2) poly I:C; 3) коктейль в смеси с poly I:C; 4) контроль без стимуляции. Иммунофенотип полученных зрелых ДК определяли методом проточной цитофлуориметрии. Секрецию цитокинов оценивали с помощью иммуноферментного анализа.

Результаты. Созревание ДК сопровождалось откреплением от пластика и увеличением количества псевдоподий. При использовании poly I:C доля открепившихся клеток была выше, чем в контроле, но ниже, чем при использовании коктейля.

Стимуляция коктейлем, а также смесью коктейля с poly I:C приводила к достоверному повышению экспрессии ДК рецепторов, связанных со взаимодействием с Т-лимфоцитами: CCR7, CD83, CD40, CD86 и HLA-DR. При использовании только poly I:C только уровень экспрессии CD83 (один из ключевых маркеров

созревания ДК) и CD40 был достоверно выше контрольного.

Значительный уровень секреции IL-12 (определяющего направление иммунного ответа в сторону Т-звена) отмечен при использовании «коктейля», тогда как в контроле и при использовании poly I:C концентрация IL-12 была ниже порогового уровня обнаружения. Добавление poly I:C к «коктейлю» привело к двукратному росту секреции IL-12.

Заключение. Poly I:C стимулирует созревание ДК, но эффект от его применения значительно слабее, чем при использовании «коктейля». В то же время сочетание poly I:C с «коктейлем» дает определенный кумулятивный эффект на ДК, выражающийся в существенном увеличении секреции IL-12.

ИНГИБИТОРЫ КАРБОНГИДРАЗ ЧЕЛОВЕКА ВЫЗЫВАЮТ ТОКСИЧНОСТЬ КЛЕТОК САРКОМ ЮИНГА: ПУТЬ К ТЕРАПИИ ОПУХОЛИ

Д.Р. Файзуллина¹, С.И. Якушов¹, К.Р. Канцерова¹,
Е.Д. Беляева¹, Д.А. Анискин¹, С.В. Цибульников¹,
Н.П. Логинова¹, А.А. Недорубов², С.А. Калинин³,
О.М. Романцова⁴, П.С. Тимашев⁵, И.В. Уласов¹

¹институт регенеративной медицины ФГАОУ ВО
«Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России
(Сеченовский Университет), Москва;

²институт трансляционной медицины ФГАОУ ВО
«Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России
(Сеченовский Университет), Москва;

³ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный
университет», Санкт-Петербург;

⁴НИИ детской онкологии и гематологии ФГБУ «НМИЦ
онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

⁵научный центр мирового уровня «Цифровой биодизайн
и персонализированное здравоохранение» ФГАОУ ВО
«Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России
(Сеченовский Университет), Москва
e-mail: dfazullina@yandex.ru

Ключевые слова: саркома Юинга, карбоангидразы, токсичность

Введение. Для саркомы Юинга характерно сильное изменение клеточного метаболизма. Карбоангидразы – группа ферментов, отвечающих за регуляцию кислотно-щелочного баланса внутри клеток и вне их за счет обратимой реакции гидратации оксида углерода с образованием свободных протонов. Они играют важную роль в метаболизме опухоли, способствуют подавлению апоптотических путей при создании в клетке щелочных условий, а также инвазии и метастазированию в случае закисления среды. Использование ингибиторов карбоангидраз потенциально является эффективным способом противоопухолевой терапии.

Цель исследования – оценить влияние ингибиторов карбоангидраз на метаболизм саркомы Юинга для последующего использования их в терапии.

Материалы и методы. В работе использованы первичные короткоживущие культуры саркомы Юинга, полученные в процессе резекции, и перевиваемая клеточная линия A673 (ATCC). В качестве контроля использовались эмбриональные фибробласты. Для ингибиторов проведены тесты на токсичность, исследована экспрессия белков при помощи вестерн-блота и оценки уровня лактатдегидрогеназы в супернатантах. Используемые ингибиторы карбоангидраз – OX-71 и Ру-23.

Результаты. Мы продемонстрировали, что терапия ингибиторами карбоангидраз в дозозависимой манере ограничивает рост опухолевых клеток, демонстрируя низкую токсичность для нормальных фибробластов человека. Мы обнаружили повышение уровня проапоптотических белков BAX и PUMA, однако LDH-анализы и окраска на аннексин V/PI показали незначительное увеличение апоптоза по сравнению с контролем (10–20 %), что позволяет предположить апоптоз не основным способом клеточной гибели, индуцируемым ингибиторами. На молекулярном уровне выбранные ингибиторы снижают экспрессию FTH1 на 40–90 % по сравнению с клетками A673, которые не инкубировались с ингибиторами. Использование модулятора ферроптоза RLS3 повышало чувствительность опухолевых клеток к терапии. Исследование будет продолжено *in vivo* на подкожных A673 ксенографтах мышей.

Заключение. Полученные результаты *in vitro* позволяют считать ингибиторы карбоангидраз безопасными и эффективными противоопухолевыми агентами.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 21-15-00213).

ИССЛЕДОВАНИЕ СОВМЕСТНОГО ДЕЙСТВИЯ ВОРИНОСТАТА И ДОКСОРУБИЦИНА НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ SKBR-3

Э.И. Хакимова, М.Р. Моллаева, Н.Г. Яббаров, М.Б. Сокол,
М.В. Чиркина, Е.Д. Никольская

ФГБУН «Институт биохимической физики
им. Н.М. Эмануэля РАН», Москва
e-mail: ha.emilia1@gmail.com

Ключевые слова: доксорубин, вориностат, рак молочной железы, синергизм

Введение. Злокачественные новообразования молочной железы являются распространенными среди женщин в развитых странах мира. Комбинированная терапия считается распространенным методом лечения опухолевых заболеваний, поскольку позволяет снизить дозы препаратов и преодолеть лекарственную устойчивость. Стоит отметить, что комбинации на основе вориностата (SANA) в сочетании с различными цитостатическими препаратами все чаще исследуются для применения в терапии опухолевых заболеваний.

Цель исследования – поиск эффективного соотношения доксорубина (ДОКС) и вориностата (SANA) для лечения HER2⁺ рака молочной железы с помощью математической модели Loewe. Комбинированная терапия широко применяется для лечения опухолевых заболеваний за счет возможности преодоления ограничений монотерапии. Интерес к комбинации SANA и ДОКС обусловлен тем, что SANA увеличивает воздействие ДОКС на опухолевые клетки. Однако подбор эффективного соотношения препаратов является сложной задачей. При этом возникают проблемы, связанные с определением оптимальных концентраций и с учетом эффектов взаимодействия веществ. Модель Loewe основана на синергетическом взаимодействии препаратов и позволяет оценить степень синергизма. Использование этой математической модели дает возможность исследователям оценить эффективность комбинации SANA и ДОКС и определить оптимальное соотношение между ними.

Материалы и методы. Методом МТТ-теста определяли значения IC₅₀ для SANA и ДОКС в отношении линии клеток аденокарциномы молочной железы человека линии SKBR-3. Полученные значения IC₅₀ (0,14 мкМ для ДОКС и 4,5 мкМ – для SANA) использовали как исходные для составления матрицы. Матрица состояла из 9 концентраций ДОКС (по вертикали, сверху вниз: 0,14; 0,07; 0,035; 0,0018; 0,0088; 0,0044; 0,0022; 0,0011; 0 мкМ) и 9 концентраций SANA (по горизонтали, слева направо: 0; 0,035; 0,07; 0,14; 0,28; 0,56; 1,12; 2,25; 4,5 мкМ). По составленной матрице проводили МТТ-тест и определяли выживаемость клеток. Полученные значения выживаемости клеток вносили в программу SynergyFinder 2.0 и рассчитывали индекс синергизма для 64 исследуемых комбинаций по модели Loewe.

Результаты. Полученные результаты свидетельствовали об аддитивном эффекте комбинации SANA и ДОКС в отношении клеток линии SKBR-3 (–0,98 по Loewe, значение свидетельствовало об аддитивном эффекте). При анализе математической модели Loewe были выбраны концентрации 4,5–0,14 мкМ (по значению наибольшего индекса синергизма) и получено эффективное соотношение SANA: ДОКС – 32:1. Выявлено, что значения IC₅₀ для ДОКС и SANA в комбинации ниже, чем при добавлении веществ по отдельности, что свидетельствует об эффективности полученного соотношения.

Заключение. С помощью математической модели Loewe выявлен аддитивный эффект комбинации SANA/ДОКС, а также определено оптимальное соотношение SANA/ДОКС в отношении линии клеток SKBR-3.

Исследование выполнено за счет гранта РФФ № 22-25-00293.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРЕПАРАТОВ, НАЦЕЛЕННЫХ НА МЕТАБОЛИЗМ МИТОХОНДРИЙ В ОПУХОЛЬ-АССОЦИИРОВАННЫХ МАКРОФАГАХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

А.Р. Халитова¹, А.Ф. Каримова¹, Я.О. Мухамедшина¹,
М.О. Гомзикова¹, А.А. Ризванов¹, Н.А. Барлев^{1,4},
Н.И. Марков², Х.-У. Симон^{1,2}, А.И. Бричкина^{1,3}

¹лаборатория молекулярной иммунологии института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань;

²институт фармакологии Бернского университета, Берн;

³центр онкологии и иммунной биологии Марбургского университета им. Филиппа, Марбург;

⁴кафедра биомедицинских наук медицинского факультета Назарбаев Университета, Астана
e-mail: adely3030@gmail.com

Ключевые слова: опухоль-ассоциированные макрофаги, метаболизм митохондрий, микроокружение опухоли

Введение. Опухоль-ассоциированные макрофаги (ОАМ) представляют собой основную популяцию иммунных клеток в микроокружении опухоли, проявляющих противоопухолевую активность на ранних стадиях прогрессирования и проопухолевую активность при диагностированном заболевании. К настоящему времени выявлена прогностическая взаимосвязь между различными типами солидного рака и инфильтрацией макрофагов подтипов провоспалительных макрофагов М1 или противовоспалительных макрофагов М2, причем подтип М2 коррелирует с неблагоприятным исходом для пациента, а подтип М1 свидетельствует о благоприятном прогнозе. Проопухолевые ОАМ получают большую часть энергии за счет окисления жирных кислот и окислительного метаболизма, поэтому их функционирование зависит от митохондриального дыхания. Активация М1 подтипа ингибирует окислительное фосфорилирование в макрофагах, что предотвращает будущий переход макрофагов в М2. Существуют различные стратегии нацеливания на макрофаги, одна из которых представляет собой репрограммирование М2 в М1. Использование препаратов, нацеленных на митохондриальный метаболизм для репрограммирования макрофагов, может стать новым подходом к лечению рака различного генеза.

Материалы и методы. Мы использовали клетки линии острого моноцитарного лейкоза THP-1 и добавляли препараты Didanosine, Oligomycine, FCCP, Rotenone для изменения метаболизма в митохондриях макрофагов. Статус активации макрофагов оценивали путем стимуляции интерлейкина — IL-4 в М1-подтипе или интерферона γ + липополисахарида в М2 с последующим анализом маркерных генов методом к-полимеразной цепной реакции.

Результаты. Все выбранные препараты, вызывающие митохондриальную дисфункцию, предотвращали

активацию М2-подобных маркеров в макрофагах (ALOX15, MRC1, IDO1, IL-10), а экспрессия маркеров поляризации М1 либо повышалась (CD80, GBP6), либо не изменялась (IL-1b, CXCL9).

Заключение. Используемые в данном исследовании препараты ингибируют проонкогенную М2-поляризацию ОАМ и индуцируют активацию противоопухолевых макрофагов статуса М1-поляризации. Применение препаратов, вызывающих дисфункцию митохондрий в ОАМ, может стать перспективным методом противораковой терапии.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Правительства РФ № 075-15-2021-600.

Работа выполнена в рамках программы стратегического академического лидерства «Приоритет-2030».

ПОВЫШЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ЦИСПЛАТИНУ РЕЗИСТЕНТНЫХ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ SKOV3/CDDP ПРИ ПРЕДИНКУБАЦИИ С КВЕРЦЕТИНОМ, ОБЛАДАЮЩИМ ПРООКСИДАНТНЫМ И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМ ДЕЙСТВИЯМИ

А.А. Хасан¹, Е.В. Калинина¹, Ю.В. Нужина²,
А.К. Исагулиева^{2,3}, Ю.Л. Володина⁴, А.А. Штиль⁴,
В.В. Татарский²

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва;

²ФГБУН «Институт биологии гена РАН», Москва;

³ФГБУ «ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва;

⁴ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва
e-mail: ali.aseel.hasan@gmail.com

Ключевые слова: кверцетин, цисплатин, АФК, прооксидант

Введение. Актуальной проблемой химиотерапии рака яичников является лекарственная устойчивость опухолевых клеток. Одним из важных направлений повышения эффективности в терапии этого заболевания является поиск путей ресенсибилизации резистентных раковых клеток к широко используемому противоопухолевому препарату цисплатину (ЦП).

Цель исследования — изучить механизм «обращения» резистентности к ЦП клеток аденокарциномы SKOV3/CDDP при прединкубации с кверцетином.

Материалы и методы. Для оценки апоптоза опухолевых клеток, активных форм кислорода (АФК), скорости и остановки клеточного цикла использовали проточную цитометрию; детекцию белков и их внутриклеточный уровень оценивали с помощью вестерн-блоттинга. МТТ-тест использован для оценки цитотоксичности.

Результаты. Использование предварительной инкубации клеток SKOV-3/CDDP с кверцетином в оп-

тимальной дозе (60 мМ, 48 ч) приводило к значительному повышению цитотоксического эффекта ЦП. Кроме того, длительная инкубация только с кверцетином в течение 48 ч вызывала остановку клеточного цикла в фазе G1/S, тогда как прединкубация с кверцетином с последующим действием ЦП вызывала накопление клеток в субфазе G1 (апоптоз). Изучение механизма действия позволило установить, что предварительная инкубация с кверцетином оказывает прооксидантный эффект, вызывая индукцию генерации АФК путем ингибирования антиоксидантной тиоредоксин-зависимой системы (Trx/TrxR), что способствует активации митохондриального апоптотического пути (расщепляемые каспазы 9, 7 и 3 и расщепляемый PARP) посредством подавления сигнального пути (mTOR/STAT3) в клетках SKOV-3/CDDP.

Заключение. Полученные результаты вносят новый вклад в представления о механизме «обращения» резистентности опухолевых клеток к ЦП с помощью кверцетина.

ЭКСПРЕССИЯ КОСТИМУЛИРУЮЩИХ МОЛЕКУЛ НА CD4⁺ Т-ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНОЙ КАРЦИНОМой

Д.А. Хоченков¹, Ю.Г. Ивашкова², Д.В. Шмат², Ю.С. Баула¹, Ю.А. Хоченкова¹, Э.Ш. Соломко¹

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

²ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К.И. Скрябина», Москва
e-mail: khochenkov@gmail.com

Ключевые слова: Т-лимфоциты, светлоклеточная почечно-клеточная карцинома, костимулирующие молекулы

Введение. Почечно-клеточный рак (ПКР) – карцинома – одно из распространенных злокачественных новообразований с постоянно увеличивающимся количеством выявленных случаев во всем мире. Сравнительное изучение особенностей экспрессии костимулирующих молекул субпопуляций Т-лимфоцитов периферической крови у пациентов с ПКР и здоровых доноров позволяет получить дополнительные возможности для оценки иммунного микроокружения.

Цель исследования – определить особенности экспрессии костимулирующих молекул на CD4⁺ Т-лимфоцитах периферической крови пациентов со светлоклеточным ПКР и здоровых доноров.

Материалы и методы. Мононуклеары периферической крови были получены из периферической крови пациентов со светлоклеточным ПКР до получения хирургического лечения ($n = 13$) и здоровых доноров ($n = 7$) путем центрифугирования в градиенте Ficoll-Paque (GE Healthcare). Клетки инкубировали с мечеными

флуорохромом антителами к поверхностным антигенам CD45, CD3, CD4, CD8, CD127, OX-40, CD69, CD62L (Sony Biotech/Invitrogen). Окрашенные клетки анализировали на проточном цитометре. Результаты представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения. Статистическую значимость различий между сравниваемыми группами оценивали по непараметрическому *U*-критерию Манна–Уитни. Различия между показателями считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Проведен анализ уровня экспрессии рецепторов CD127, OX-40, CD69, CD62L на поверхности CD4⁺ Т-лимфоцитах периферической крови пациентов со светлоклеточным ПКР и здоровых доноров. Исследование поверхностных антигенов лимфоцитов периферической крови позволило установить значительное повышение рецепторов CD62L ($17,08 \pm 1,59$ % против $3,41 \pm 1,01$ %, $p < 0,05$) и CD69 ($10,71 \pm 1,26$ % против $5,32 \pm 1,36$ %, $p < 0,05$) на CD4⁺ Т-лимфоцитах пациентов с ПКР, по сравнению со здоровыми донорами. CD127 (IL-7R α), являющийся маркером, позволяющим идентифицировать клетки памяти и эффекторные Т-клетки, был также больше представлен на CD4⁺ Т-лимфоцитах пациентов с ПКР чем доноров ($20,97 \pm 2,78$ % против $4,57 \pm 0,83$ %, $p < 0,05$). В то же время различие в экспрессии костимулирующего рецептора OX40 (CD134), который временно представлен на активированных Т-клетках и постоянно на Т-регуляторных клетках, менее выражено: $65,89 \pm 3,15$ % против $59,51 \pm 5,14$ %, $p < 0,05$.

Заключение. Установлено, что у пациентов с ПКР до хирургического лечения уровень экспрессии CD127, CD69, CD62L на CD4⁺ Т-лимфоцитах периферической крови выше, чем у здоровых доноров.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 19-15-00442П).

МОДУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ ГОМОЛОГИЧНОЙ РЕКОМБИНАЦИИ В ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, ИНДУЦИРОВАННАЯ НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИЕЙ

М.М. Цыганов, М.К. Ибрагимова

НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск
e-mail: tsyganovmm@yandex.ru

Ключевые слова: гены гомологичной рекомбинации, неоадъювантная химиотерапия, рак молочной железы

Введение. В настоящее время показано, что наличие дефицита гомологичной рекомбинации (ДГР и ГР) в опухоли молочной железы может иметь важное значение для лечения, в частности для назначения препаратов платины и таксанов. Однако под действием химиотерапии (ХТ) может происходить индукция

активности генов ГР или, наоборот, появление дополнительных нарушений, что и будет индуцировать формирование ДГР. Это может иметь отражение как в эффекте проводимой ХТ, так и в отдаленных результатах лечения.

Цель исследования – оценка связи экспрессии и aberrаций числа копий ДНК в основных генах ГР в процессе неoadъювантной химиотерапии с эффективностью ХТ.

Материалы и методы. В исследование включены 96 больных РМЖ IIA – IIIB-стадии. Все больные получали 2–8 курсов неoadъювантной ХТ (НХТ) по схемам AC, CAХ, операцию и адъювантную ХТ (АХТ). Для анализа aberrаций числа копий (CNA) проводили микроматричный анализ на ДНК-чипах. Уровень экспрессии генов (*BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *BARD1*, *BRIP1*, *CDK12*, *CHEK1*, *CHEK2*, *FANCL*, *PALB2*, *PPP2R2A*, *RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D*, *RAD54L*, *PARP1*) оценивали при помощи ОТ-полимеразной цепной реакции.

Результаты. Установлено, что снижение уровня экспрессии генов *BRCA1* ($p = 0,000002$) и *PALB2* ($p = 0,05$) связано с объективным ответом на лечение. Повышение уровня экспрессии генов *BRCA1* ($p = 0,0005$), *CHEK1* ($p = 0,01$) и *CHEK2* ($p = 0,003$) связано со стабилизацией и прогрессированием опухоли. Частота делеций генов ГР до лечения варьирует от 7,4 до 54,3 %, амплификаций – от 2,1 до 57,4 %. После НХТ: 3,1–29,2 и 2,1–43,8 % соответственно. Дальнейший анализ показал, что в группе пациентов с полной и частичной регрессией чаще происходит появление делеций, по сравнению с группой без ответа на НХТ, в следующих генах: *BRCA1* (29,4 % против 6,5 %), *BRCA2* (32,4 % против 12,9 %), *BARD1* (26,5 % против 3,2 %), *BRIP1* (20,6 % против 3,2 %), *CHEK2* (35,3 % против 12,9 %). В группе больных со стабилизацией и прогрессированием чаще наблюдается восстановление нормальной копияности генов или возникновение амплификаций. Это происходит в таких генах, как *BRCA1* (55,9 % против 79,0 %), *BRCA2* (67,6 % против 83,9 %), *BARD1* (73,5 % против 90,3 %), *CHEK1* (73,5 % против 75,8 %), *CHEK2* (64,7 % против 82,3 %), а также *RAD51C* (58,8 % против 67,7 %) и *RAD51D* (61,8 % против 77,4 %) (Fisher test, $0,001 < p < 0,03$).

Заключение. Таким образом, было показано, что в процессе НХТ может происходить развитие резистентности опухоли к противоопухолевым препаратам за счет изменения наличия хромосомных aberrаций. При этом комплексный подход в оценке молекулярно-генетического статуса генов ГР в опухоли позволит индивидуализировать программу лечения больных РМЖ.

Работа поддержана грантом РФФ
№ 22-15-00169.

КОМБИНИРОВАННОЕ ЛЕЧЕНИЕ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА IV СТАДИИ НА ОСНОВЕ ОЦЕНКИ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ХИМИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И ГЕНОВ АВС-ТРАНСПОРТЕРОВ

И.А. Цыденова^{1,2}, В.А. Маркович¹, М.К. Ибрагимова¹⁻³,
М.М. Цыганов¹, Д.С. Долгашева^{1,2}, Е.А. Кравцова^{1,2},
К.А. Гаптулбарова¹⁻³, Н.В. Литвяков¹⁻³

¹НИИ онкологии – филиал ФГБНУ

«Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск;

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

³ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск
e-mail: tsydenova422@gmail.com

Ключевые слова: персонализированное лечение, перитонеальный канцероматоз, опухолевая гетерогенность

Введение. Перитонеальный канцероматоз является крайне неблагоприятным вариантом прогрессирования рака желудка (РЖ). Предпринимаются значительные усилия, чтобы понять механизм этой устойчивости и улучшить результаты лечения.

Цель исследования – оценка эффективности персонализированного назначения химиотерапии (ХТ) на основе анализа межсайтовой гетерогенности экспрессии генов семейства АВС-транспортеров и генов химиочувствительности при комбинированном лечении больных РЖ IV стадии с перитонеальным канцероматозом.

Материалы и методы. В исследование включено 70 пациентов с морфологически верифицированным диагнозом РЖ IV стадии. В контрольную группу ($n = 35$) были включены больные, которым выполнялась циторедуктивная операция с последующей ХТ по схеме FOLFOX. В основную группу было проспективно включено 35 пациентов, которым выполнялась циторедуктивная операция, затем проводилась персонифицированная системная и интраперитонеальная ХТ. Для исследования был использован операционный материал (опухолевая ткань желудка, неизменная ткань желудка, канцероматоз, материал метастаза в лимфатический узел). Уровень экспрессии генов АВС-транспортеров: *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCC5*, *ABCG1*, *ABCG2* и генов химиочувствительности: *BRCA1*, *RRM1*, *ERCC1*, *TOP1*, *TOP2a*, *TUBB3*, *TYMS*, *GSTP1* оценивали при помощи обратнo-транскриптной количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (Rotor-Gene-6000 (Corbett Research, Australia)). Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ Statistica 8.0.

Результаты. Выявлен высокий уровень экспрессивной гетерогенности у пациентов с РЖ.

Схемы назначения в зависимости от уровня экспрессии генов химиочувствительности в разных сайтах были следующими: FOLFIRI + C; TRFL + C; XELIRI + C; PC; GemCap + C. Сроки наблюдения за больными составили от 10 до 37,9 мес. В основной группе медиана времени без прогрессирования (ВБП) составила 15,8 мес, с интерквартильным размахом (13,5–19,1), в группе контроля – 11,2 (10,3–11,6) мес ($p < 0,001$; $\chi^2 = 47,662$). Медиана общей выживаемости (ОВ) в основной группе составила 18,7 мес, с интерквартильным размахом (15,0–24,3), в контрольной группе – 12,7 (11,3–13,1) мес ($p < 0,001$; $\chi^2 = 50,731$).

Заключение. Разработанный метод лечения позволяет улучшить отдаленные результаты комбинированного лечения в виде значимого увеличения медианы ВБП и ОВ.

Работа выполнена при поддержке гранта Минобрнауки России № 075-15-2021-1073.

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНКАПСУЛЯЦИИ ПРОИЗВОДНЫХ КАРБОПЛАТИНА В НАНОЧАСТИЦЫ PLGA ПУТЕМ СОЧЕТАНИЯ МЕТОДОВ *IN SILICO* И *IN VITRO*

М.В. Чиркина¹, М.Б. Сокол¹, Н.Г. Яббаров¹,
М.Р. Моллаева¹, Т.А. Подругина², А.С. Павлова²,
В.В. Темнов², Е.Д. Никольская¹

¹ФГБУН «Институт биохимической физики
им. Н.М. Эмануэля РАН», Москва;

²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова», Москва
e-mail: chir.marg@mail.ru

Ключевые слова: PLGA, наночастицы, молекулярный докинг, PASS, карбоплатин, противоопухолевая эффективность, доставка лекарств

Введение. Карбоплатин (Крт) – препарат на основе платины, активно применяющийся в современной онкотерапии. Вместе с тем высокая неспецифическая токсичность, низкая биодоступность и селективность действия способствуют развитию резистентности и приводят к низкой эффективности терапии онкозаболеваний.

Цель исследования – анализ возможности применения методов молекулярного моделирования для дизайна наночастиц (НЧ) с предсказанием их биологических свойств по сравнению с экспериментальными данными, полученными *in vitro*.

Материалы и методы. Проведено (*in silico*) молекулярное моделирование взаимодействия новых структурных модификаций на основе 3-гидроксикарбоплатина (Крт3) с полимером poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA), их синтез и включение в полимерную матрицу. Применен онлайн-сервис PASS для прогнозирования противоопухолевой активности производных Крт.

Исследована цитотоксическая активность *in vitro* (с помощью метода МТТ) синтезированных производных Крт и полученных НЧ с ними.

Результаты. Молекулярный докинг Крт, модифицированного лигандами: бензильным (Крт1), адамантильным (Крт2), алкильными (Крт3, Крт4), – показал наименьшее значение энергии связи (т. е. лучшее взаимодействие с полимерной матрицей) для соединения Крт3. Энергия связи всех производных была ниже, чем у Крт, что указывает на улучшенное сродство новых производных к полимеру. Оценка PASS показала, что производные Крт обладают противоопухолевой активностью. НЧ были получены методом одинарного эмульгирования, размер находился в диапазоне 180–300 нм, ζ-потенциал: –12,8 : –28,0 мВ. Наблюдалось значительное увеличение эффективности инкапсуляции Крт3-NP, что соответствует результатам оценки энергии связывания *in silico*. Анализ цитотоксической активности в отношении клеток немелкоклеточной карциномы легкого человека линии A549 показал, что алкильный радикал Крт3 способствовал значительному увеличению активности (IC₅₀ для Крт и Крт3 составили 39,70 и 7,32 мкМ соответственно).

Заключение. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что комбинированный подход *in silico* и *in vitro* является успешной стратегией разработки НЧ и может быть применен для дизайна систем доставки лекарственных средств с низкой загрузкой и эффективностью инкапсуляции для увеличения этих параметров.

ПРИМЕНЕНИЕ МАЛЫХ ИНТЕРФЕРИРУЮЩИХ РНК В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРА ГАНКИРИНА В ТЕРАПИИ ГЛИОМ

В.С. Пашковская^{1,2}, Д.Ю. Травникова^{1,2},
М.Ю. Кордюкова³, Ю.В. Котелевцев¹, В.В. Белоусов^{2,3},
Т.С. Зацепин⁴, Т.О. Абакумова²

¹АНОО ВО «Сколковский институт наук и технологий», Москва;

²ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России,
Москва;

³ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий»
ФМБА России, Москва;

⁴ФГБОУ ВО «Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова», Москва
e-mail: darija-travnikova@yandex.ru

Ключевые слова: глиобластома, ганкирин, РНК-интерференция, миРНК

Введение. РНК-интерференция – новый перспективный подход к лечению онкологических заболеваний путем выключения генов с повышенной экспрессией в опухолевых клетках или генов, связанных с делением клеток. Одним из таких потенциальных онкогенов является ганкирин (PSMD10), который активируется при различных видах рака и играет ключевую роль в прогрессировании опухолей.

Цель исследования – оценка эффективности ингибирования гена PSMD10 с использованием миРНК *in vitro* и *in vivo* при различных методах введения.

Материалы и методы. РНК выделяли с помощью набора ExtractRNA («Евроген», Россия). Синтез кДНК проводили с использованием системы обратной транскрипции QuantiTect Kit (Qiagen). Полимеразную цепную реакцию проводили на оборудовании Applied Biosystems (Thermo Fisher Scientific) с реакционной смесью qPCR mix-HS SYBR master mix («Евроген», Россия). Уровни мРНК измеряли с помощью $2^{-\Delta\Delta Ct}$ -метода относительного гена *GAPDH*. В *in vivo* экспериментах использовали самцов мышей линии C57Bl/6. Имплантиацию глиомных клеток G1261 (500 тыс. клеток в 5 мкл) в *striatum* проводили на стереотаксической установке (Stoelting Co.). Флуоресцентный анализ *in vivo* был проведен на IVIS Spectrum CT в соответствии с протоколами производителя.

Результаты. В данной работе мы получили липидные наночастицы (ЛНЧ) с миРНК против ганкирина по описанной ранее методике. Эффективность ингибирования PSMD10 изучили на линии человеческой глиомы U87 и на мышинной линии GL261. Экспрессия онкопротеина снижалась при введении миРНК-1 на 90 %, миРНК-3 – на 83 % спустя 24 ч после трансфекции.

Далее был проведен анализ биораспределения миРНК-ЛНЧ у мышей с экспериментальной глиомой. Частицы с красителем суанине 5.5 вводили через хвостовую вену или напрямую в область опухоли. С помощью IVIS было показано, что миРНК-ЛНЧ при внутривенном введении накапливаются в *striatum* – область стереотаксической имплантации опухолевых клеток. Далее продемонстрировано, что экспрессия гена *in vivo* успешно подавляется только в случае интратуморального введения, в то время как внутривенного введения недостаточно.

Заключение. Наблюдалось снижение экспрессии онкопротеина PSMD10 с помощью миРНК как *in vitro* в глиобластомных линиях, так и *in vivo* в патологических тканях при интратуморальном введении. В случае внутривенного введения миРНК-ЛНЧ накапливаются в опухолевом очаге, однако в будущем необходимо подобрать эффективную дозу для ингибирования гена.

Работа выполнена при поддержке РФФ (грант № 22-75-10151).

МОЛЕКУЛЯРНО-НАПРАВЛЕННАЯ ТЕРАПИЯ У ПАЦИЕНТОВ С РАСПРОСТРАНЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА: ОПЫТ ОДНОГО КЛИНИЧЕСКОГО ЦЕНТРА

П.С. Шило¹, М.Л. Степанова², А.А. Захаренко³

¹ООО «Лакта клиника», Санкт-Петербург;

²ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический) им. Н.П. Напалкова», Санкт-Петербург;

³ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург
e-mail: polinashilo@gmail.com

Ключевые слова: молекулярно-направленная терапия, солидные опухоли, опухоли желудочно-кишечного тракта

Введение. Молекулярно-направленная терапия, назначенная на основании результатов геномного профилирования, может улучшить прогноз у пациентов с распространенными солидными опухолями и исчерпанными возможностями лекарственной терапии.

Цель исследования – анализ эффективности молекулярно-направленной терапии у пациентов с распространенными формами опухолей желудочно-кишечного тракта.

Материалы и методы. В исследование включены данные 29 пациентов с распространенными опухолями желудочно-кишечного тракта, которым выполнено таргетное секвенирование и которые наблюдались и проходили противоопухолевую терапию в условиях онкологического подразделения «Лакта клиники». Был проанализирован спектр выявленных мутаций, назначение молекулярно-направленной терапии и клинический ответ опухоли на лечение с 2019 по 2023 г.

Результаты. Наиболее часто геномное профилирование выполнялось пациентам с колоректальным раком ($n = 14$, 48,3 %), холангиокарциномой ($n = 9$, 31,0 %) и раком поджелудочной железы ($n = 4$, 13,8 %). У 44,8 % ($n = 13$) пациентов обнаружена по крайней мере одна клинически значимая альтерация. В 20,7 % ($n = 6$) случаев альтерации открывали дополнительные возможности терапии. Молекулярно-направленная таргетная терапия назначена 4 пациентам, и у 3 больных (2 пациента с раком толстой кишки и 1 пациентка с раком поджелудочной железы) зарегистрирован клинически значимый ответ.

Заключение. Молекулярно-направленная терапия, назначенная на основании данных геномного профилирования, может быть перспективным методом лечения пациентов с распространенными солидными опухолями. Необходимы крупные проспективные исследования для анализа целесообразности данного подхода в условиях реальной клинической практики.

РАСТИТЕЛЬНЫЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ПРЕПАРАТ АЙЛАНТОН СВЯЗЫВАЕТСЯ С РИБОСОМОЙ И ИНГИБИРУЕТ БИОСИНТЕЗ БЕЛКА

Т.А. Штам^{1,2}, А.В. Никитина^{1,2}, И.И. Сорокин³,
Е.Б. Пичкур^{1,2}, Л.А.-А. Гараева^{1,2}, А.Л. Коневега^{1,2},
С.Е. Дмитриев³

¹ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики
им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский Институт»,
Гатчина;

²НИЦ «Курчатовский Институт», Москва;

³НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского
ФГБОУ ВО «Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова», Москва
e-mail: shtam_ta@npi.nrcki.ru

Ключевые слова: айлантон, опухолевые клетки человека и животных, противоопухолевая терапия

Введение. Айлантон — низкомолекулярное вещество из группы кваассиноидов, один из главных компонентов препаратов восточной медицины, изготавливаемых из коры дерева *Ailanthus altissima*. Несмотря на описанные терапевтические эффекты айлантона в отношении ряда онкологических заболеваний, его мишень в клетке и молекулярный механизм действия оставались неизвестными.

Цель исследования — определение молекулярного механизма терапевтического действия айлантона в опухолевых клетках человека и животных.

Материалы и методы. Антипролиферативную активность айлантона оценивали на клеточных моделях опухолей человека (Du145, A172, HeLa, A549, G1-Tr) и животных (RLC, EMT6) с помощью резазуринового теста, а также системы детекции жизнеспособности клеток в реальном времени xCELLigence. Анализ влияния айлантона на параметры клеточного цикла проводили с помощью проточной цитометрии. Структуру комплекса 80S рибосомы человека с айлантоном определяли с помощью криоэлектронной микроскопии.

Результаты. Мы определили, что айлантон, кваассиноид из растения *Ailanthus altissima*, проявляет значительную противоопухолевую активность *in vitro* и *in vivo*. Кроме того, при определенных концентрациях айлантон индуцирует остановку клеточного цикла в G0-/G1-фазе. Методами мРНК-трансфекции и *in vitro* трансляции мы показали, что айлантон ингибирует биосинтез белка в клетках млекопитающих. С помощью криоэлектронной микроскопии высокого разрешения была получена структура 80S рибосомы человека в комплексе с айлантоном. Разрешение 2.24Å позволило изучить детали межмолекулярных контактов ингибитора с компонентами пептидилтрансферазного центра рибосомы.

Заключение. Айлантон ингибирует рост опухолевых клеток за счет подавления биосинтеза белка. Таким образом, айлантон, компонент препаратов восточной

медицины, может рассматриваться в качестве перспективного действующего вещества в противоопухолевой терапии.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ
№ 19-74-20146-н.

ВЛИЯНИЕ АНТИКАНЦЕРОГЕННЫХ ПОЛИФЕНОЛОВ НА АКТИВНОСТЬ СИСТЕМ РЕПАРАЦИИ ДНК

П.А. Штомпель, М.Г. Якубовская, К.И. Кирсанов,
Т.И. Фетисов

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, Москва
e-mail: polina.shtooo@gmail.com

Ключевые слова: полифенолы, репарация ДНК, кверцетин, эпигаллокатехин-3-галлат

Введение. Химиотерапия является одним из основных методов лечения злокачественных новообразований, однако ее применение может быть ограничено рядом факторов. Во-первых, развитием лекарственной устойчивости у опухолевых клеток, что приводит к снижению эффективности лечения. Во-вторых, цитотоксический эффект препаратов затрагивает также и нормальные клетки. Поскольку действие многих химиопрепаратов направлено на индукцию повреждений ДНК, особый интерес представляют соединения, способные модулировать процесс репарации ДНК. К подобным соединениям относятся полифенолы — вторичные метаболиты растений. Посредством интеркаляции в ДНК полифенолы модулируют ферменты метаболизма ДНК, в том числе участвующих в репарации ДНК.

Цель исследования — оценка влияния эпигаллокатехин-3-галлата (EGCG) и кверцетина на эффективность репарации повреждений ДНК, индуцируемых генотоксическим препаратом ифосфамидом.

Материалы и методы. Исследование проводилось на клеточной линии HeLa. С помощью метода ДНК-комет оценивали влияние соединений на уровень ифосфамид-индуцированных повреждений ДНК. Количество фокусов гистона γ -H2AX, задействованного в инициации репарации ДНК, подсчитывали с помощью иммуноцитохимического окрашивания, используя специфичные антитела к гистону γ -H2AX. Уровень экспрессии генов, кодирующих белки репарации (MGMT, MRE11, ATM, PARP1, XRCC2, XRCC1, ATR, PARG), измеряли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. Время экспозиции клеток с ифосфамидом (2 мкг/мл) составляло 6 ч, после среда заменялась на новую с добавлением кверцетина (12,5 мкМ) и EGCG (30,3 мкМ) и клетки инкубировали 18 ч.

Результаты. Для кверцетина и EGCG было показано статистически значимое снижение уровня повреждений ДНК, вызванных ифосфамидом. Кроме того,

наблюдалось статистически значимое снижение количества фокусов гистона γ -H2AX, индуцированных химиопрепаратом ифосфамидом. В монорегиме кверцетин способствовал увеличению числа фокусов гистона γ -H2AX. Основным эффектом на активность генов репарации являлось изменение экспрессии MGMT и ATM, а также изменение активности MRE11, PARP1, XRCC2.

Заключение. Учитывая снижение уровня повреждений ДНК и изменение в уровнях экспрессии генов, кодирующих белки репарации, преимущественно MGMT, можно предположить о возможности активации EGCG и кверцетином репарации ДНК. Полученные нами данные далее могут быть использованы в клинической практике. Например, для снижения частоты побочных эффектов и риска возникновения развития вторичных опухолей у пациентов. Кроме того, полифенолы могут применяться для защиты медицинского персонала от генотоксического действия химиопрепаратов.

РАЗНОЕ ВЛИЯНИЕ 20-ГИДРОКСИЭКДИЗОНА (20E) НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЗМ В ОПУХОЛЕВЫХ И МЫШЕЧНЫХ КЛЕТКАХ

О.Ю. Шувалов, Ю.Н. Кирдеева, Е.А. Фефилова,
С.Е. Парфеньев, А.А. Дакс, Н.А. Барлев

ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург
e-mail: oleg8988@mail.ru

Ключевые слова: MAS1, 20E, энергетический метаболизм, опухолевые клетки, мышечные клетки

Введение. 20-гидроксиэкдизон (экдистерон, 20E) – стероидный гормон членистоногих, синтезируемый также рядом лекарственных растений. Показано, что у млекопитающих, включая человека, данное соединение не является гормоном, но при этом обладает рядом полезных, хорошо задокументированных фармакологических свойств: анаболическим, антиоксидантным, гипогликемическим, кардио- и нейропротекторным и др. Именно поэтому 20E используется в виде БАДов, созданных на основе экстрактов нескольких лекарственных растений различной степени очистки. Кроме того, 20E находится в клинических испытаниях для терапии ряда заболеваний. Ранее мы и другие исследователи обнаружили у данного вещества потенциальные противоопухолевые свойства. При этом молекулярные механизмы, лежащие в основе фармакологических свойств 20E, в значительной степени остаются не изученными.

Цель исследования – оценить влияние 20E на энергетический метаболизм опухолевых и мышечных клеток в зависимости от статуса рецептора MAS1.

Материалы и методы. Эксперименты проводили на клеточных моделях карциномы легкого человека, а также на миоцитах и фибробластах мыши. Были использованы как клетки «дикого типа», так и с нок-

дауном MAS1 – предполагаемого рецептора 20E. Влияние 20E на уровень АФК оценивали с использованием проточной цитометрии. Для оценки количества и активности ряда метаболических ферментов и уровня аденозинтрифосфата использованы полимеразная цепная реакция в РВ, иммуноблоттинг и соответствующие коммерческие тест-наборы. Оценку влияния 20E на интенсивность гликолиза, дыхания, а также β -окисления жирных кислот проводили с использованием технологии Seahorse. Для оценки противоопухолевых свойств 20E *in vivo* использована сингенная мышьяная модель, включающая мышью C57Bl, несущих меланому B16F10.

Результаты. Мы показали, что 20E ингибировал энергетический метаболизм в опухолевых клетках и в то же время значительно повышал его в миоцитах и фибробластах. При этом 20E снижал уровень АФК во всех клеточных моделях. Данные эффекты оказались частично зависимыми от рецептора MAS1 и активности сигнальных каскадов, ассоциированных с G-белками. Противоопухолевые свойства 20E были также подтверждены *in vivo*. Данное вещество значительно повысило продолжительность жизни мышью линии C57Bl с меланомой B16F10 в условиях монотерапии.

Заключение. 20-гидроксиэкдизон повышает энергетический метаболизм в миоцитах и фибробластах, при этом ингибируя его в клеточных моделях опухолей легкого. В основе данного явления лежат сигнальные каскады, ассоциированные с G-белками. Эти результаты значимы для понимания молекулярных механизмов, лежащих в основе плейотропности фармакологических эффектов 20E в различных тканях млекопитающих.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РНФ № 21-75-10138.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ СООТНОШЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ МРНК-РЕЦЕПТОРОВ: IR-A, IR-B, IGF-1R И IGF-2R ПРИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЕ

С.С. Шушанов¹, Ю.Б. Черных², Т.А. Захарова¹,
Н.П. Акентьева³

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

²ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского», Москва;

³ФГБУН «ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН», Черногоровка
e-mail: sainhershy@yandex.ru

Ключевые слова: система инсулиноподобных факторов роста/инсулина, множественная миелома, экспрессия мРНК

Введение. Рецепторы: IR-A, IR-B, IGF-1R, IGF-2R – и их гибридные комбинации: IR-A/IR-B, IGF-1R/IR-A и IGF-1R/IR-B – являются компонентами системы инсулиноподобных факторов роста (IGF/INS).

Известно, что система IGF/INS играет ключевую роль в патогенезе множественной миеломы и имеет множественные функции в прогрессии этого заболевания: усиливает пролиферацию и выживание миеломных клеток, участвует в селективной локализации клеток миеломы в костном мозге, остеоллизисе, а также регулирует механизмы возникновения лекарственной устойчивости.

Характерной особенностью системы IGF/INS является способность подвергаться диверсификации сигналов с помощью различных механизмов. Например, ингибирование рецептора IGF-1R приводит к активации IR-зависимого сигнального пути, что является причиной резистентности к IGF-1R таргетной терапии. Кроме того, чувствительность к ингибированию IGF-1R зависит от соотношения экспрессии IGF-1R и IR. Когда соотношение IGF-1R:IR высокое, как в случае с клетками рака молочной железы, ингибирование IGF-1R является эффективным и, напротив, — когда соотношение IGF-1R:IR низкое, ингибирование IGF-1R не достигает результата. Таким образом, прежде чем использовать в качестве терапевтической мишени тот или иной рецептор системы IGF/INS, важно знать количественное соотношение экспрессии всех рецепторов этой системы, что позволит правильно оценить возможные диверсификации сигналов и подобрать наиболее адекватную схему ингибирования.

Цель исследования — установить количественное соотношение экспрессии мРНК-рецепторов: IR-A, IR-B, IGF-1R и IGF-2R в лимфобластоидных клетках IM9 и в трех линиях миеломных клеток — RPMI1640, RPMI8226, H929, а также выявить частоту экспрессии этих рецепторов в мононуклеарной фракции аспиратов костного мозга, полученных от 19 леченных больных множественной миеломой.

Материалы и методы. Экспрессию мРНК в клетках изучали методом количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени, а в образцах аспиратов костного мозга — методом полуколичественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией.

Результаты. В ходе исследования установлено, что внутри каждой линии клеток рецептор IR-A является преобладающим по сравнению с рецептором IR-B. У больных множественной миеломой наблюдается высокая частота экспрессии IR-A по сравнению с IR-B. Минимальное соотношение мРНК IGF-1R:IR-A и IGF-1R: IR-B приходится на лимфобластоидные клетки IM9, а для миеломных клеток эти соотношения высокие. Соотношение IGF-2R: IR-A максимально для лимфобластоидных клеток IM9, а для для миеломных клеток это соотношение меньше в 3 раза и более.

Закключение. На основании исследования количественного соотношения мРНК-рецепторов мы утверждаем, что в миеломных клетках высока вероятность

присутствия гомодимеров IGF-1R/IGF-1R, IR-A/IR-A и гетеродимера IGF-1R/IR-A. Указанные комбинации рецепторов предполагают существенное усиление митогенного эффекта за счет активации лигандами: IGF-1, IGF-2 и INS.

ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ НОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ ДЛЯ КЛЕТОК ЛЕЙКОЗА С ТРАНСЛОКАЦИЯМИ MLL-R И CALM-AF10

А.В. Щербакова¹, Э.Р. Гандалипов¹, Е.В. Манасова²,
Д.Н. Казюлькин², А.А. Штиль³, А.В. Куркин²

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет ИТМО», Санкт-Петербург;

²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва;

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

e-mail: scherbakova_anna@scamt-itmo.ru

Ключевые слова: MLL-r, CALM-AF10, гибель клеток, лейкозы

Введение. Лейкозы, характеризующиеся транслокацией гена *MLL* (mixed lineage leukemia), сопряжены с быстрым течением и высокой смертностью. Стандартные терапевтические стратегии часто неэффективны. Требуется поиск новых методов лечения, основанных на знаниях молекулярных механизмов патогенеза этих новообразований. Предложено соединение-прототип CCI-007 [1].

Цель исследования — установить цитотоксичность (ЦТ) аналогов CCI-007 для линий клеток с транслокациями MLL-r (rearrangement) и CALM/AF10.

Материалы и методы. Использованы линия остроуго миелоидного лейкоза ТНР-1, несущая перестройку в гене *MLL* (*MLL-r*), клетки U937 со слиянием генов *CALM/AF10* и линия KG-1, в которой отсутствуют указанные генетические перестройки. Для анализа ЦТ применяли тест с резазурином. Для выяснения роли сложноэфирной группы в аналогах соединения-прототипа использовали производные с биоизостерными заменами (амидная и кислотная группы). Клетки инкубировали с соединениями в диапазоне концентраций 0,1–100 мкМ до 72 ч. Распределение фаз клеточного цикла оценивали в проточной цитофлуориметрии с окраской ядер пропидия йодидом.

Результаты. Аналоги CCI-007 с ароматическим заместителем у атома азота 2-аминотиазол-4 (5Н) — она вызывают гибель клеток ТНР-1 и U937 в микромолярном диапазоне концентраций и неактивны для линии KG-1. Биоизостерные замены существенно снижали ЦТ. При использовании производных с анилиновым фрагментом не наблюдали нарушений распределения фаз клеточного цикла, что позволяет предположить неапоптотический механизм гибели. Соединения без сложноэфирных групп вызывали накопление клеток в фазах subG1 и G2/M.

Заключение. Аналоги CCI-007 с анилиновым фрагментом вызывают гибель клеток с *MLL-r* и *CALM/AF10* и не влияют на жизнеспособность клеток без указанных генных перестроек. Планируется изучение молекулярных предпосылок селективности аналогов с ароматическими фрагментами в тиазол-4 (5H) – онах.

Литература

1. Somers K., Chudakova D.A., Middlemiss S.M., et al. CCI-007, a novel small molecule with cytotoxic activity against infant leukemia with MLL rearrangements. *Oncotarget*. 2016;7(29):46067–87. DOI: 10.18632/oncotarget.10022

РАЗРАБОТКА ИНДИВИДУАЛИЗИРОВАННОГО ПОДХОДА К ПРОГНОЗИРОВАНИЮ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИММУНОТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ С ПОМОЩЬЮ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ИМИДЖИНГА

Д.В. Южакова¹, А.В. Изосимова^{1,2}, Д.С. Сачкова^{1,2},
К.С. Яшин¹, Е.Б. Киселева¹, А.Р. Кондратьева¹,
А.М. Можеров¹, В.И. Щеславский¹, М.В. Ширманова¹

¹ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Нижний Новгород;

²ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород
e-mail: yuzhakova-diana@mail.ru

Ключевые слова: FLIM, иммунотерапия, опухоль

Введение. Ключевыми моментами в области персонализированной иммунотерапии рака является выбор биомаркера для прогнозирования эффективности лечения и достоверного инструментального метода оценки. Метаболический статус Т-клеток играет ключевую роль в раннем ответе на терапию и может стать надежным предиктором, в то время как флуоресцентный времяразрешенный имиджинг (FLIM) может служить мощным неинвазивным инструментом для анализа Т-клеток в их нативном состоянии.

Цель исследования – оценить возможности метаболического FLIM в Т-лимфоцитах для индивидуального анализа эффективности иммунотерапии опухолей.

Материалы и методы. Автофлуоресценцию метаболического кофермента никоникотинамидадениндинуклеотида фосфата (НАД(Ф)Н) визуализировали с помощью флуоресцентного конфокального лазерного сканирующего микроскопа LSM 880 (Carl Zeiss, Германия) с FLIM-модулем TCSPC (Becker & Hickl GmbH, Германия). Анализ экспрессии маркеров активации и пролиферации проводили с помощью клеточного сортера BD FACSAria III.

Результаты. На I этапе мы осуществляли оптимизацию подхода на модели мышинной меланомы B16F0, одной из наиболее распространенных мишеней для иммунотерапии чекпойнт-ингибиторами. Установлено,

что достоверно различить группы животных, ответивших и не ответивших на анти-CTLA-4-терапию, позволяет оценка относительного вклада свободной фракции $\alpha 1$ НАДН, рост которой ассоциирован со сдвигом в сторону гликолиза и глутаминолиза для поддержки повышенных потребностей активированных Т-клеток.

На II этапе мы рассматривали другой тип агрессивной опухоли – человеческую глиобластому. Иммунотерапия не включена в стандарт лечения глиом, однако рассматривается как перспективный альтернативный вид лечения. Мы разработали пациент-специфическую *in vitro* 3D-модель на основе фрагмента опухолевой ткани, сокультивируемого с лимфоцитами из образца крови того же пациента, которая демонстрировала гетерогенный ответ на добавление анти-CTLA-4- и/или анти-PD-1-антитела как среди отдельных пациентов, так и среди разных видов лечения. В ряде случаев был достигнут положительный эффект, выражающийся в повышении НАДН $\alpha 1$ (данные FLIM), коррелировавшем с результатами стандартных измерений – значительным увеличением количества иммунных клеток и снижением количества опухолевых клеток (данные световой микроскопии), активацией лимфоцитов и снижением индекса пролиферации опухолевых клеток (данные проточной цитометрии).

Заключение. Таким образом, нами показаны возможности метаболического FLIM Т-клеток для индивидуального предсказания эффективности иммунотерапии опухолей.

Работа поддержана грантом РФФ № 23-74-10109.

ЗАВИСИМОСТЬ ФАРМАКОКИНЕТИКИ АСТАТА-211 ОТ ДИЕТЫ

О.А. Юминов¹, Д.А. Бондаренко², В.А. Дроздов¹,
Д.О. Еременко^{1,3}, А.Н. Мурашев², С.Ю. Платонов^{1,3},
О.В. Фотина¹

¹НИИ ядерной физики им. Д.В. Скобельцына ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва;

²ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиком М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН» – филиал г. Пуццо;

³ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва
e-mail: vadim_drozдов@mail.ru

Фармакокинетика астата-211 (²¹¹At) исследовалась на 2 группах животных (самцы крыс SD [Sprague Dawley]). Одна группа получала нормальное питание, а другая находилась на трехдневной безйодовой диете. Тестируемый радиофармпрепарат вводили животным внутривенно в хвостовую вену однократно, в объеме 10 мл/кг, в дозе 100 мкКи/животное. В ходе исследования животные подвергались некропии в определенные временные точки (30 мин; 1, 3, 6, 12, 16 и 24 ч) с забором органов и тканей для дальнейшего подсчета

накопленной в органах активности с помощью колодезного сцинтилляционного γ -спектрометра. Для каждой временной точки использовалось 6 животных.

Активность в органах определялась как в процентах от введенной активности:

$$n_{\text{орг}} = \frac{N_{\text{орг}}(t)}{N_{\text{введ}}} \times 100 \%,$$

так и в процентах от введенной активности, деленной на массу органа:

$$nm_{\text{орг}} = \frac{N_{\text{орг}}(t)}{N_{\text{введ}} m_{\text{орг}}} \times 100 \%,$$

где $N_{\text{орг}}(t)$ – активность в органе в момент времени t , $m_{\text{орг}}$ – введенная активность, $m_{\text{орг}}$ – масса органа в граммах.

Обнаружено, что концентрация ^{211}At во всех критических органах (печень, почки, легкие, желудок, мозг и т. д.), кроме щитовидной железы, практически не зависит от диеты. Для щитовидной железы безйодовая диета повышает концентрацию радионуклида ^{211}At в несколько раз.

РАЗРАБОТКА ПОДХОДА ДЛЯ МУЛЬТИТАРГЕТНОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Н.Г. Яббаров, М.Р. Моллаева, М.Б. Сокол, М.В. Чиркина,
Е.Д. Никольская

ФГБУН «Институт биохимической физики
им. Н.М. Эмануэля РАН», Москва
e-mail: yabbarovng@gmail.com

Ключевые слова: мультитаргетная доставка, анти- Her2 -антитела, анти-селектин-Е-антитела

Введение. Направленная терапия опухолей – основная задача современной онкологии, важным аспектом которой является анализ индивидуального профиля маркеров. Для увеличения эффективности доставки и снижения побочных эффектов в терапии представляется перспективным использовать доставку противоопухолевых агентов, способных специфически взаимодействовать с двумя или более маркерами опухолевых клеток мишеней. Предполагается, что такая система доставки позволит значительно улучшить его фармакокинетику и биораспределение, увеличить соотношение «опухоль/орган», что, в свою очередь, позволит уменьшить пассивное поглощение цитотоксического агента здоровыми тканями и снизить нежелательные побочные эффекты. Ранее было разработано множество подходов: иммобилизация одного векторного агента на носителе или получение прямых конъюгатов; ступенчатая доставка, основанная на таргетинге первичной молекулы и последующем введении вторичной; использование биспецифичных антител; гибридизация комплементарных олигонуклеотидов; синтетические пары на основе «клик-реагентов»;

иммобилизация двух векторных молекул. Последний пример наиболее близок к разрабатываемой нами системе.

Цель исследования – изучить систему мультитаргетной доставки, в которой для специфичного связывания используются два лиганда к дистанцированным мишеням опухолевой ткани – анти- Her2 -антитела (Герцептин), анти-селектин-Е-антитела, повышенной экспрессией которых характеризуется опухолевая и эндотелиальная ткань в очагах воспаления.

Материалы и методы. Антитела были направленно иммобилизованы на поверхности полимерного носителя с помощью аналога DCAWHLGELVWCT пептида, способного формировать специфичную ковалентную связь с Fc-регионами. Полученный носитель был способен селективно накапливаться в клетках линии SK-BR-3 с выраженным высоким уровнем экспрессии Her2^+ , незначительно поглощаясь Her2^- -клетками линии MCF-7. Tet-on индуцибельная линия HMVEC также селективно поглощала комплекс в присутствии активатора экспрессии Е-селектина – доксициклина.

Результаты. Предварительные исследования комплекса *in vivo* на мышцах с перевиваемой моделью опухоли молочной железы 4T1 показали значительный уровень накопления в опухолевой ткани, несмотря на низкий базальный уровень экспрессии Her2 данными клетками.

Закключение. Предполагается, что использование двух легкозаменимых векторных молекул (антител), в случае присутствия их мишеней в целевых тканях, может привести к значительному увеличению специфичности доставки, тем самым увеличив терапевтический эффект.

МУЛЬТИТАРГЕТНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ НА МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПУТИ АНГИОГЕНЕЗА И АПОПТОЗА ДЛЯ ТЕРАПИИ ГЛИОБЛАСТОМЫ

А.В. Яголович^{1,2}, А.А. Исакова^{1,2}, А.А. Артыков¹,
А.А. Панкратов³, Е.А. Плотникова³, Г.В. Трунова³,
В.А. Хохлова³, Д.А. Долгих^{1,2}, М.Э. Гаспарян¹

¹ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академикова
М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН», Москва;

²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова», Москва;

³Московский научно-исследовательский онкологический
институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ
«НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва
e-mail: annayagolovich@gmail.com

Ключевые слова: TRAIL, рецептор смерти DR5, VEGFR2, пептид iRGD

Введение. Адаптивная резистентность к антиангиогенным препаратам требует привлечения новых мишеней, в частности сигнального пути цитокина TRAIL, осуществляющего иммунобиологический надзор за опухолями.

Цель исследования – разработка стратегии двойного нацеливания на злокачественные клетки и сосудистое микроокружение глиобластомы (ГБ) с помощью мультивалентного белка на основе TRAIL.

Материалы и методы. Разработан гибридный белок SRH-DR5-B-iRGD, содержащий антиангиогенный VEGFR2-специфичный пептид SRH на N-конце и опухолеспецифичный пептид iRGD на C-конце цитокина TRAIL, селективный к рецептору смерти DR5. Сродство к рецепторам определяли методом иммуноферментного анализа. Интернализацию DR5 устанавливали проточной цитометрией. Противоопухолевый эффект изучали *in vitro* на клеточных линиях и первичных нейросферах ГБ человека и *in vivo* – на ксенографтной модели ГБ U87 в мышах Nude. Действие на сосудистую сеть опухоли оценивали иммуногистохимически.

Результаты. Показана высокая аффинность лиганда SRH-DR5-B-iRGD к рецепторам VEGFR2, DR5

и интегрину $\alpha\beta3$. SRH-DR5-B-iRGD стимулировал DR5-опосредованную гибель опухолевых клеток, усиливал интернализацию DR5 и обладал повышенной цитотоксичностью *in vitro*. Торможение роста опухолевых ксенографтов *in vivo* составило 80 %, при этом продолжительность жизни животных увеличивалась вдвое. SRH-DR5-B-iRGD ингибировал васкуляризацию опухоли, уменьшая скопления сосудов, снижая степень ветвления и подавляя формирование сосудистых стенок.

Заключение. Параллельное нацеливание на рецепторы VEGFR2, интегрин $\alpha\beta3$ /NRP-1 наряду с активацией рецептора DR5 обусловило сочетанный противоопухолевый и антиангиогенный эффекты. Таким образом, одновременное воздействие на молекулярные пути ангиогенеза и апоптоза с помощью гибридного белка SRH-DR5-B-iRGD является новым подходом к лечению солидных опухолей.

Исследование поддержано грантом РФФ № 21-14-00224.

