

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  
IX Всероссийской конференции  
по молекулярной онкологии  
18–20 декабря 2024 г., Москва*



ADVANCES IN MOLECULAR ONCOLOGY

4

TOM 11  
VOL. 11  
**2024**

Приложение

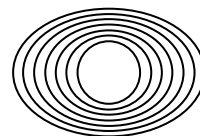
Журнал «Успехи молекулярной онкологии» входит в перечень ведущих рецензируемых научных периодических изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией (ВАК) для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук.

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** ТОМ 11  
**'24**

Приложение

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

**Издатель:**  
ООО «ИД «АБВ-пресс»  
115478 Москва,  
Каширское шоссе, 24, стр. 15

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

**Прием статей:**  
онлайн на сайте  
<http://umo.abvpress.ru/jour>  
или по адресу [adv.mol.onc@ronc.ru](mailto:adv.mol.onc@ronc.ru)

**Дизайн и верстка Е.В. Степанова**  
**Служба подписки и распространения**  
**И.В. Шупраева, [base@abvpress.ru](mailto: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 2313-805X (Print)  
ISSN 2413-3787 (Online)  
Успехи молекулярной онкологии.  
2024. Том 11. № 4. Приложение.  
1–144.

© Оформление, верстка.  
ООО «ИД «АБВ-пресс», 2024  
Подписной индекс в каталоге  
«Пресса России» – 93562.

## ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Красильников Михаил Александрович, д.б.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 Наталья 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)

Кжышковска 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)

Ковалева Ольга Владимировна, д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории регуляции клеточных и вирусных онкогенов НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (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)

Гурцевич 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)

Зарилде 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)

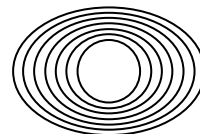
The journal "Advances in Molecular Oncology" is put on the Higher Attestation Commission (HAC) list of leading peer-reviewed scientific periodicals recommended to publish the basic research results of candidate's and doctor's theses.

The journal is included in the Scientific Electronic Library and the Russian Index of Science Citation (RISC) 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** VOL. 11  
**'24**  
Appendix

#### Founders:

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

#### Publisher

PH "ABV-Press" 24 Kashirskoe  
Shosse, Bld. 15, Moscow 115478

#### Editorial Office:

Research Institute of Carcino-  
genesis, Floor 3, 24 Kashirskoe  
Shosse, Bld. 15, Moscow 115478.  
Tel.: +7 (499) 929-96-19

E-mail: [abv@abvpress.ru](mailto:abv@abvpress.ru)  
[www.abvpress.ru](http://www.abvpress.ru)

#### Article submission:

on-line at <http://umo.abvpress.ru/jour>  
or by e-mail to [adv.mol.onc@ronc.ru](mailto:adv.mol.onc@ronc.ru)

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

Subscription & Distribution Service  
I.V. Shurgaeva, [base@abvpress.ru](mailto:base@abvpress.ru)

The journal was registered at the  
Federal Service for Surveillance of

Communications, Information Technologies,  
and Mass Media  
(ИИ 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 mole-  
kulyarnoy onkologii".

The editorial board is not responsible  
for advertising content. The authors, point  
of view given in the articles may not coincide  
with the opinion of the editorial board.

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

Uspekhi molekulyarnoy onkologii.  
2024. Vol. 11 No. 4. Application.  
1–144.

© Design, layout PH "ABV-Press",  
2024  
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 city 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)

**Kovaleva, Olga V.**, DSc, Sr. Researcher of the Laboratory of Regulation of Cellular 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)

**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)

**Jurisic, 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 Tumor Biochemistry Group, 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

## IX ВСЕРОССИЙСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ ПО МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОНКОЛОГИИ

18–20 декабря 2024 г., Москва

---

# Materials

## OF THE 9<sup>TH</sup> ALL-RUSSIAN CONFERENCE ON MOLECULAR ONCOLOGY

Moscow, 18–20 December 2024

---

<b>Секция I</b>	
ГЕНОМИКА И ЭПИГЕНОМИКА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ .....	9
<b>Секция II</b>	
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПРОГРЕССИИ И МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ ОПУХОЛЕЙ .....	23
<b>Секция III</b>	
МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА ОПУХОЛЕЙ .....	58
<b>Секция IV</b>	
МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ .....	87
<b>Секция V</b>	
ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ВЕЗИКУЛЫ В ДИАГНОСТИКЕ И ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ .....	140



**Section I**

GENOMICS AND EPIGENOMICS OF MALIGNANT LESIONS:  
FUNDAMENTAL AND APPLIED ASPECTS ..... 9

**Section II**

MOLECULAR MECHANISMS OF PROGRESSION AND METASTATIC DISSEMINATION OF TUMORS ..... 23

**Section III**

MOLECULAR DIAGNOSTIC OF TUMORS ..... 58

**Section IV**

MOLECULAR BIOLOGICAL APPROACHES TOWARDS ANTI-NEOPLASTIC TREATMENT ..... 87

**Section V**

EXTRACELLULAR VESICLES IN THE DIAGNOSIS AND THERAPY OF MALIGNANT NEOPLASMS. .... 140



БРВ – безрецидивная выживаемость  
ВВ – внеклеточные везикулы  
ВКД – внеклеточный домен  
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения  
ВПЧ – вирус папилломы человека  
ВЭБ – вирус Эпштейна–Барр  
ГИСО – гастроинтестинальная стромальная опухоль  
ДГР – дефицит гомологичной рекомбинации  
ДИ – доверительный интервал  
днРНК – длинные некодирующие РНК  
ЗНО – злокачественное новообразование  
ИГХ – иммуногистохимический  
ИТК – ингибиторы тирозинкиназ  
ИФН – интерферон  
ИФА – иммуноферментный анализ  
КРР – колоректальный рак  
ММ – множественная миелома  
мРНК – матричная РНК  
НМРЛ – немелкоклеточный рак легкого  
ОМЛ – острый миелоидный лейкоз  
ОП – относительная плотность  
ОТ-ПЦР – полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией  
ПКР – почечно-клеточный рак  
ПЦР – полимеразная цепная реакция  
ПЦР-РВ – полимеразная цепная реакция в реальном времени  
РЖ – рак желудка  
РЛ – рак легкого  
РМЖ – рак молочной железы  
РПЖ – рак предстательной железы  
РТК – рак толстой кишки  
РШМ – рак шейки матки  
РЯ – рак яичника  
ХМЛ – хронический миелоидный лейкоз  
ХТ – химиотерапия  
ЭМП – эпителиально-мезенхимальный переход  
AUC – площадь под ROC-кривой  
FISH – флуоресцентная гибридизация *in situ*  
IL – интерлейкин  
LGR – large genomic rearrangements (крупные геномные перестройки)  
NGS – секвенирование нового поколения  
TGFβ – трансформирующий фактор роста β  
TNFα – фактор некроза опухоли α

## Секция I

# Геномика и эпигеномика злокачественных новообразований: фундаментальные и прикладные аспекты

## Изучение ассоциации варианта сайта сплайсинга с.1088+11589 гена *BABAM2* с риском развития рака яичника

Е.А. Андреева<sup>1,2</sup>, Я.В. Валова<sup>1,3</sup>, Э.Т. Мингажева<sup>1</sup>,  
С.С. Александрова<sup>1</sup>, Э.К. Хуснутдинова<sup>1,4</sup>, Д.С. Прокофьева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», Уфа;

<sup>2</sup>АНО ВО «Уральский медицинский институт», Челябинск;

<sup>3</sup>ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии  
человека», Уфа;

<sup>4</sup>ФГБУН «Институт биохимии и генетики Уфимского  
научного центра РАН», Уфа  
e-mail: ekaterinabiology@yandex.ru

**Введение.** В структуре онкозаболеваемости женского населения Российской Федерации рак яичника (РЯ) занимает 9-е место и 3-е — в структуре гинекологического рака после рака эндометрия и рака шейки матки (РШМ). На сегодняшний день до сих пор нет надежного метода скрининга, позволяющего выявлять это заболевание на ранних стадиях. По этой причине особенно важное значение имеет разработка ранних предикторов заболевания на основе генетических маркеров.

Ген *BABAM2* (BRISC and BRCA1 A complex member 2, BRE), картированный на коротком плече хромосомы 2 (2p23.2), кодирует антиапоптотический белок, ассоциированный с Fas-рецептором, который взаимодействует с рецептором-1 фактора некроза опухоли. Белок *BABAM2* является участником ряда протеиновых комплексов, включая BRCA1-A и BRISC. Нокдаун гена *BABAM2* нарушает формирование очагов гена *BRCA1* в местах повреждения ДНК и таким образом играет важную роль в ее восстановлении. В то же время гиперэкспрессия *BABAM2* может способствовать выживаемости опухолевых клеток. Замена аденина на цитозин в позиции с.1088+11589 комплементарной ДНК гена *BABAM2* (*rs150302537*) является вариантом сплайсинга, который изменяет 2-ю базовую область на 3'-конце интрона.

**Цель исследования** — анализ ассоциации полиморфного варианта с.1088+11589 (*rs150302537*) гена *BABAM2* 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 с установленным диагнозом РЯ ( $n = 209$ ) и женщин без онкологических заболеваний на момент забора крови ( $n = 208$ ) в возрасте 17–87 лет из Республики Башкортостан. Генотипирование проводилось с использованием системы высокопроизводительного теста полимеразной цепной реакции (ПЦР) на жидкостных микрочипах Fluidigm BioMarkHD 192.24 SNPtype Genotyping Technology (Fluidigm, США).

**Результаты.** Во время обследования женщин нашего региона были выявлены 4 (1,89 %) носительницы данного варианта среди больных РЯ, и у 5 (2,38 %) здоровых доноров мутация находилась в гетерозиготном состоянии. Однако выявленные различия между исследуемыми группами не достигли уровня статистической значимости ( $p > 0,05$ ).

**Заключение.** Таким образом, нами не обнаружено ассоциаций варианта *rs150302537* гена *BABAM2* с риском развития РЯ у женщин из Республики Башкортостан.

*Работа выполнена при финансовой поддержке  
Министерства науки и высшего образования РФ  
по программе развития биоресурсных коллекций ФАНО  
(государственное задание № 075-03-2021-193/5).*

## Адаптация клеток рака молочной железы к гипоксии: роль сигнальных путей STAT3 и Snail1

О.Е. Андреева<sup>1</sup>, Д.В. Сорокин<sup>1</sup>, А.М. Щербаков<sup>1,2</sup>,  
С.В. Винокурова<sup>1</sup>, П.Б. Копнин<sup>1</sup>, Н.В. Елкина<sup>1</sup>,  
М.Д. Федорова<sup>1</sup>, А.Н. Катаргин<sup>1</sup>, Д.С. Елкин<sup>1</sup>,  
М.А. Красильников<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков  
им. Г.Ф. Гаузе», Москва

e-mail: o.andreeva@ronc.ru

**Введение.** Одной из характерных особенностей злокачественных новообразований (ЗНО) является рост опухоли в условиях гипоксии, вызванной недо-

статочной оксигенацией опухолевой ткани. Длительная гипоксия сопровождается постепенной адаптацией опухолевых клеток к ней, повышением выживаемости, увеличением метастатического потенциала и развитием устойчивости к противоопухолевой терапии.

**Цель исследования** — получить устойчивые к гипоксии сублинии клеток рака молочной железы (РМЖ) и исследовать механизмы, обеспечивающие адаптацию опухолевых клеток к этим условиям.

**Материалы и методы.** Культивирование клеток в нормоксии и гипоксии (1 % кислорода), МТТ-тест (колориметрический тест для оценки метаболической активности клеток, или тест на жизнеспособность), лентивирусная инфекция, иммуноблоттинг, ПЦР-РВ, анализ метилирования методом бисульфитного пиро-секвенирования.

**Результаты.** Методом длительного культивирования в условиях гипоксии получены сублинии клеток РМЖ MCF-7/Н и MDA-MB-231/Н, отличающиеся устойчивым ростом в условиях гипоксии. Анализ рост-регулирующих сигнальных белков показал, что указанный процесс сопровождается активацией (повышением фосфорилирования) HIF-1-зависимого транскрипционного фактора STAT3 и стабильной гиперэкспрессией Snail1, одного из ключевых эффекторов STAT3. Сравнительный анализ метилирования ДНК не выявил изменений ни в экспрессии ДНК-метилтрансфераз, ни в метилировании LINE-повторов в клетках, толерантных к гипоксии. При этом было обнаружено частичное восстановление чувствительности резистентных клеток к гипоксии при действии деметилирующих агентов (децитабина) или нокауте ДНК-метилтрансферазы. Деметилирование ДНК сопровождалось выраженным повышением активности проапоптотических белков, что может являться одним из основных факторов сенсibilизации клеток к гипоксии.

Среди факторов эпигеномной регуляции особое место занимают малые некодирующие РНК, контролирующие экспрессию генов на посттранскрипционном уровне. Мы показали, что трансфекция в клетки miR-181a-2 — микроРНК, ассоциированной с развитием устойчивости клеток к повреждающим воздействиям, — приводит к стимуляции роста клеток, в том числе при гипоксии, и сопровождается выраженной активацией STAT3/Snail-сигналинга.

**Заключение.** Развитие толерантности клеток РМЖ к гипоксии может быть основано на реаранжировке внутриклеточных сигнальных путей, в частности активации STAT3/Snail-сигналинга. Поддержание и закрепление таких изменений происходит с участием факторов эпигеномной регуляции, одним из которых является miR-181a-2, и, скорее всего, целого ряда других некодирующих микроРНК, мишенью которых являются гены ростового сигналинга. Впервые описан эффект увеличения чувствительности опухолевых клеток к гипоксии в присутствии деметилирующих агентов. Мы полагаем, что использование последних в ком-

бинации со стандартными химиопрепаратами позволит разработать новые подходы к подавлению роста и элиминации опухолевых клеток, устойчивых к гипоксии.

*Работа выполнена при финансовой поддержке  
Российского научного фонда (РНФ)  
(грант № 24-25-00462).*

## Анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов ферментов репарации ДНК в формировании риска рака молочной железы у женщин моложе 45 лет

М.Л. Баканова<sup>1,2</sup>, Я.А. Захарова<sup>1,3</sup>, В.И. Минина<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН», Кемерово;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет», Кемерово;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», Кемерово

e-mail: mari-bakano@ya.ru

**Цель исследования** — анализ вариантов генов репарации ДНК (*APEX1 rs1130409*, *hOGG1 rs1052133*, *NBS1 rs1805794*, *XPB rs13181*) в связи с риском формирования РМЖ у женщин моложе 45 лет.

**Материалы и методы.** Были обследованы 110 пациенток, проживающих в Кемеровской области, с диагнозом РМЖ и 60 здоровых женщин, которые составили группу сравнения. Испытуемые были подобраны с учетом возраста и статуса курения, у каждой было взято согласие на исследование. ДНК выделяли из периферической крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Варианты генов *hOGG1 rs1052133*, *APEX1 rs1130409*, *XPB rs13181*, *NBS1 rs1805794* изучали методом ПЦР-РВ по технологии конкурирующих TaqMan-зондов с использованием наборов реактивов СибДНК (ООО «СибДНК», Новосибирск). Амплификацию и детекцию результатов проводили с помощью CFX96 (Bio Rad, США). Для статистической обработки данных использовали пакеты прикладных программ SNPStats (<http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats>) и STATISTICA 10 (StatSoft, Inc., США). Статистически значимыми различия считали при  $p < 0,05$ . Лучшую модель среди них определяли, используя информационный критерий Акайке (AIC), имеющий наименьшее значение.

**Результаты.** Выявлены ассоциации РМЖ с геном *APEX1 rs1130409* для лог-аддитивной модели наследования (отношение шансов 0,57; 95 % доверительный интервал (ДИ) 0,35–0,93;  $p = 0,02$ ). В обследованных группах частоты генотипов и аллелей исследованных генов соответствовали равновесию Харди–Вайнберга. Ген *APEX1* кодирует апуриновую/апиримидиновую эндонуклеазу 1, которая представляет собой важный

фермент, играющий центральную роль в восстановлении поврежденных оснований и разрывов одноцепочечной ДНК, вызванных окислением или алкилированием, путем удаления AP-сайтов. Ряд исследований продемонстрировал взаимосвязь между риском развития РМЖ и полиморфизмом гена *APEX1 rs1130409*.

**Заключение.** Полученные данные указывают на возможную роль вариантов генов *APEX1 rs1130409* в формировании риска РМЖ у женщин моложе 45 лет.

*Работа выполнена в рамках государственного задания «Иммуно-гормональные взаимодействия при РМЖ» (проект АААА-А21-121011590009-9).*

## Роль варианта rs3841162 гена *MYST1* в патогенезе рака яичника

Я.В. Валова<sup>1,2</sup>, Э.Т. Мингажева<sup>1</sup>, Д.С. Прокофьева<sup>1</sup>,  
Е.А. Андреева<sup>1</sup>, А.В. Сагитова<sup>1</sup>, Э.К. Хуснутдинова<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», Уфа;

<sup>2</sup>ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», Уфа;

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН», Уфа  
e-mail: Q.juk@yandex.ru

**Введение.** Среди новообразований женских половых органов РЯ является наиболее сложной формой онкопатологии, этиология и патогенез которой окончательно не исследованы. Ученые сходятся во мнении, что важнейшая роль в формировании злокачественных опухолей яичников отводится генетическим факторам.

Ген *MYST1*, картированный на длинном плече хромосомы 6 (6q25.2), является прямым геном-мишенью *c-Myc*. Последний представляет собой новый кандидатный ген-супрессор опухолей, впервые клонированный из плоскоклеточной карциномы гортани. Предполагается, что снижение уровня экспрессии гена *MYST1* связано с канцерогенезом.

**Цель исследования** — анализ роли полиморфного варианта с.66\_69delTAGA (*rs3841162*) гена *MYST1* в патогенезе РЯ у женщин из Республики Башкортостан.

**Материалы и методы.** В качестве материала исследования были использованы образцы ДНК, выделенные из венозной крови больных с установленным диагнозом РЯ ( $n = 209$ ) и женщин без онкологических заболеваний на момент забора крови ( $n = 208$ ) в возрасте 17–87 лет из Республики Башкортостан. Генотипирование проводилось с использованием системы высокопроизводительного ПЦР-теста на жидкостных микрочипах Fluidigm BioMarkHD 192.24 SNPtype Genotyping Technology (Fluidigm, США).

**Результаты.** В проведенном нами исследовании среди больных РЯ и контрольной группы частота встречаемости гетерозиготного генотипа ID полиморфного локуса *rs3841162* гена *MYST1* составила 9,91 % в группе больных РЯ, что незначительно отличается

от частоты данного генотипа в контрольной группе — 5,34 %. Гомозиготный генотип по минорному аллелю изучаемого ДНК-локуса был выявлен у 1 здоровой женщины (0,49 %). Однако статистически значимых различий в распределении частот аллелей и генотипов полиморфного локуса *rs3841162* гена *MYST1* среди исследуемых групп не обнаружено ( $p > 0,05$ ).

**Заключение.** Таким образом, нами не обнаружено ассоциаций варианта *rs3841162* гена *MYST1* с риском развития РЯ у женщин из Республики Башкортостан.

*Исследование поддержано программой развития биоресурсных коллекций ФАНО Министерства науки и высшего образования РФ (государственное задание № 075-03-2021-193/5).*

## Прогностическая роль метилирования генов длинных некодирующих РНК при метастазировании почечно-клеточного рака

Н.А. Иванова<sup>1</sup>, А.М. Бурденный<sup>1,2</sup>, С.С. Лукина<sup>1</sup>,  
И.В. Пронина<sup>1</sup>, Ан.Д. Селезнева<sup>1</sup>, Ал.Д. Селезнева<sup>1</sup>,  
В.И. Логинов<sup>1,3</sup>, Т.П. Казубская<sup>4</sup>, Э.А. Брага<sup>1,3</sup>

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

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

<sup>3</sup>ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова», Москва;

<sup>4</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина», Москва  
e-mail: nata-i@list.ru

**Введение.** Светлоклеточный почечно-клеточный рак (ПКР) характеризуется высокой летальностью — более 88 %. Заболевание долгое время не имеет симптомов и часто диагностируется случайно, например при проведении ультразвукового исследования по другим показаниям. В результате более 30 % случаев светлоклеточного ПКР диагностируется на поздних стадиях. У 1/3 пациентов впоследствии развивается метастатический светлоклеточный ПКР — обычно в течение нескольких лет после диагностики заболевания. Предполагается, что метастатическая активность клеток опухоли в основном определяется генами, в которых происходят изменения уровня их метилирования, в том числе в генах длинных некодирующих РНК (днРНК).

**Цель исследования** — анализ диагностического и прогностического потенциала метилирования группы генов днРНК: *ADAMTS9-AS2*, *HAND2-AS1*, *MEG3*, *SNHG6*, *SNHG1* и *GAS5*. Исследование и анализ ассоциации их метилирования с прогрессией и метастазированием при светлоклеточном ПКР.

**Материалы и методы.** Образцы опухолей светлоклеточного ПКР были собраны и клинически охарактеризованы в НИИ клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». Статус метилирования анализировали с применением бисульфит-



ной конверсии и количественной метилспецифичной ПЦР с детекцией в реальном времени (ПЦР-РВ). Для оценки значимости различий между исследуемыми группами применяли непараметрический критерий Манна–Уитни для независимых выборок.

**Результаты.** Показаны статистически значимые ( $p < 0,05$ ) различия уровня метилирования 6 генов днРНК (*ADAMTS9-AS2*, *HAND2-AS1*, *MEG3*, *SNHG6*, *SNHG1* и *GAS5*) в образцах ДНК опухолевой ткани почки у пациентов с наличием или отсутствием метастазов в лимфатические узлы. Обнаружено статистически значимое увеличение уровня метилирования на III–IV стадиях заболевания против I–II стадии. Также для 5 генов днРНК (*ADAMTS9-AS2*, *HAND2-AS1*, *MEG3*, *SNHG6*, *SNHG1*) показана ассоциация с увеличением размера новообразования.

**Закключение.** Таким образом, совокупность данных по метилированию 6 генов днРНК свидетельствует о возможной связи aberrантного метилирования промоторной зоны генов *ADAMTS9-AS2*, *HAND2-AS1*, *MEG3*, *SNHG6*, *SNHG1* и *GAS5* с прогрессией светлоклеточного ПКР.

*Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (государственное задание № FGFU-2022-0007).*

## Паттерны крупных геномных перестроек при дефиците гомологичной рекомбинации, вызванном мутацией в гене *BRCA1*

А.А. Кечин<sup>1,2</sup>, Р.Е. Михеева<sup>1,2</sup>, М.А. Корюков<sup>1,2</sup>,  
А.В. Тархов<sup>3</sup>, М.Л. Филипенко<sup>1</sup>

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

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

<sup>3</sup>Городская клиническая больница № 1, Новосибирск  
e-mail: aa\_kechin@niboch.nsc.ru

**Введение.** Дефицит гомологичной рекомбинации (ДГР) — состояние системы репарации клетки, при котором невозможно устранение некоторых повреждений в геноме или ошибок, возникающих при репликации ДНК, с использованием наиболее точного механизма — гомологичной рекомбинации. За последние несколько лет представления о том, что ДГР приводит только к невозможности правильной репарации двуцепочечных разрывов, были значительно трансформированы. Так, показано, что крупные геномные перестройки (large genomic rearrangements, LGR), наблюдаемые при инактивации обеих копий гена *BRCA1* или *BRCA2*, вызваны в первую очередь нарушением в разрешении остановленной в движении репликативной вилки, что является частым случаем при репликации даже

в нормальных клетках. В то же время значительно были расширены знания о механизмах, лежащих в основе устранения таких нарушений при репликации, в том числе роль белков *BRCA1* и *BRCA2*.

**Цель исследования** — выявление паттернов LGR, связанных с ДГР в клетках РЯ с герминальной мутацией в гене *BRCA1*.

**Материалы и методы.** Используя технологию Oxford Nanopore, были секвенированы ДНК из 2 образцов свежемороженой опухолевой ткани и 1 — лейкоцитов крови. Среднее покрытие варьировало  $\times 1-10$ . Также были использованы данные Oxford Nanopore для клеточной линии NA12878. Для выявления LGR был разработан собственный алгоритм, который был валидирован на проверенных альтернативными методами LGR в исследуемых образцах.

**Результаты.** При сравнении паттернов LGR, выявляемых разработанной программой в образцах ДНК из РЯ, лейкоцитов крови и клеточной линии NA12878, были обнаружены отличия в LGR как по типу перестроек, так и по структуре. Так, для образцов с 2 инактивированными копиями гена *BRCA1* обнаружена не только более высокая частота встречаемости тандемных дупликаций (в 3,5 раза), но и LGR с характеристиками, которые могут быть обусловлены репликацией через повреждение и содержат участки микрогомологии (в 5–10 раз чаще в образцах с ДГР) и гомеологии (в 2 раза) между регионами, вовлеченными в перестройку.

**Закключение.** Выявленные паттерны LGR, предположительно обусловленные ДГР, могут стать основой для разработки новых тест-систем для обнаружения ДГР.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 23-74-01138).*

## Экспрессия некодирующих РНК в клетках немелкоклеточного рака легкого, устойчивых к цитотоксической активности макрофагов

О.В. Ковалева, П.А. Подлесная, Е.С. Кудинова,  
В.В. Синев, Н.В. Елкина, А.Н. Грачев

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

**Введение.** Известно, что различные типы некодирующих РНК, такие как днРНК и микроРНК, играют важную роль в возникновении и прогрессии опухолей. Для большинства ЗНО показана aberrантная экспрессия данных молекул. МикроРНК участвуют в опухолевой прогрессии совместно с днРНК посредством регуляции экспрессии таргетных генов. Проведенное нами ранее исследование, посвященное изучению

устойчивости опухолевых клеток к цитотоксической активности макрофагов, выявило панель некодирующих РНК, потенциально вовлеченных в механизм приобретения опухолевыми клетками устойчивости к цитотоксичности макрофагов и, как следствие, формированию более злокачественного фенотипа.

**Цель исследования** — изучение экспрессии днРНК PSMB8-AS1 и IGFL2-AS1, а также ассоциированных с ними микроРНК miR-802 и miR-382-3p для определения их диагностической и клинической значимости при немелкоклеточном раке легкого (НМРЛ).

**Материалы и методы.** В исследование включены 42 пациента с НМРЛ, проходивших обследование и получавших лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». В работе использовались операционные образцы опухолевой и условно нормальной ткани, полученные от каждого пациента. Оценку уровня экспрессии исследуемых генов осуществляли при помощи ПЦР-РВ. Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием GraphPad Prism v. 10. Различия экспрессии днРНК между образцами опухолей и условно нормальных тканей оценивали с помощью критерия Вилкоксона для парных выборок. Корреляционный анализ проводили посредством определения коэффициента корреляции Спирмена. Анализ выживаемости — путем построения кривых дожития по методу Каплана—Майера. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Показано, что экспрессия PSMB8-AS1 в опухолевой ткани легкого снижена по сравнению с нормальной тканью, в то время как для IGFL2-AS1, miR-802 и miR-382-3p наблюдалась обратная ситуация. Анализ клинической значимости исследуемых молекул продемонстрировал, что экспрессия днРНК PSMB8-AS1 коррелирует с гистологическим типом опухоли и ее локализацией ( $r = -0,532, p = 0,0003$  и  $r = -0,475, p = 0,003$  соответственно). Так, более высокая экспрессия данного маркера характерна для аденокарцином легкого по сравнению с плоскоклеточным раком легкого (РЛ) и для новообразований периферической локализации по сравнению с центральной. Анализ ROC-кривой для днРНК PSMB8-AS1 в группе пациентов с плоскоклеточным раком (опухоль по сравнению с условной нормой) показал, что площадь под ROC-кривой (AUC) составляет 0,904 ( $p < 0,0001$ ), что свидетельствует о хорошем качестве диагностической модели и позволяет использовать полученные данные для дальнейшей верификации. Проведенный анализ прогностической значимости показал, что исследуемые в данной работе некодирующие РНК не являются прогностическими факторами НМРЛ в целом. Дополнительный анализ, проведенный в подгруппах аденокарциномы легкого и плоскоклеточного РЛ, выявил, что днРНК PSMB8-AS1 является фактором неблагоприятного прогноза для плоскоклеточного РЛ (отношение риска 4,482,  $p = 0,027$ ).

**Заключение.** В настоящее время некодирующие РНК привлекают все большее внимание в качестве диагностических и прогностических маркеров различных онкологических заболеваний. Проведенное исследование показывает, что анализа экспрессии днРНК PSMB8-AS1, IGFL2-AS1, а также ассоциированных с ними микроРНК miR-802 и miR-382-3p недостаточно для использования в диагностике и мониторинге НМРЛ. Однако, несмотря на это, можно предположить, что расширенные исследования этих некодирующих РНК и связанных с ними сигнальных путей могут в перспективе выявить их диагностический и терапевтический потенциал.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 24-15-00356).*

## Транскрипционный ландшафт сарком мягких тканей на уровне единичных клеток

Е.Е. Копанцева<sup>1</sup>, М.Е. Меньяло<sup>1,2</sup>, Т.И. Фетисов<sup>1,3</sup>,  
А.А. Хозяинова<sup>1,2</sup>, А.В. Иконников<sup>1</sup>, К.И. Кирсанов<sup>1,3</sup>,  
М.Г. Якубовская<sup>1,3</sup>, Е.В. Денисов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>НИИ молекулярной и клеточной медицины  
ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов  
им. Патриса Лумумбы», Москва;

<sup>2</sup>НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный  
исследовательский медицинский центр РАН», Томск;

<sup>3</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина», Москва  
e-mail: y.kopantseva@gmail.com

**Цель исследования** — изучение клеточного состава и транскрипционного профиля сарком мягких тканей (СМТ).

**Материалы и методы.** Шесть образцов СМТ фиксировали при помощи Chromium Single Cell Fixed RNA Sample Preparation Kit (10x Genomics) и использовали для приготовления клеточной суспензии посредством Tumor Dissociation Kit (Miltenyi Biotec) на DSC-410 Single Cell Suspension Dissociator (RWD). Транскриптомные библиотеки единичных клеток готовили с помощью Chromium Fixed RNA protocol (10x Genomics) и секвенировали на платформе Genolab M (GeneMind). Полученные данные обрабатывали с использованием Cell Ranger 7.1.0, DoubletCollection, Seurat package, SCEVAN.

**Результаты.** В образцах СМТ идентифицированы опухолевые клетки, фибробласты, макрофаги и Т-клетки. Макрофаги содержали преимущественно маркеры M2-подобной проопухолевой поляризации. Большинство экспрессирующихся макрофагами и фибробластами цитокинов являлись проопухолевыми. В 2 из 6 образцов присутствовали маркеры Т-регуляторных клеток. Таким образом, микроокружение исследованных сарком охарактеризовано как иммуносупрессивное. Также в 2 из 6 образцов отмечены маркеры CD8<sup>+</sup> Т-цито-

токсических клеток, в одном присутствовали маркеры Т-клеточного истощения.

В случае недифференцированной плеоморфной саркомы с резистентностью к 2 линиям химиотерапии (ХТ) (доксорубин и ифосфамид; доцетаксел и гемцитабин) описан популяционный состав опухолевых клеток и их транскрипционный профиль. PLEKHG5<sup>+</sup>-опухолевые клетки характеризовались высокой экспрессией генов, регулирующих клеточную плюрипотентность и воспалительную инфильтрацию. LUM<sup>+</sup>-опухолевые клетки демонстрировали гиперэкспрессию генов, связанных с ремоделированием внеклеточного матрикса, и генов *LUM*, *GPNMB* и *CAVIN1*, ассоциированных с низкой чувствительностью к доксорубину по данным предыдущих исследований. IQGAP3<sup>+</sup>-опухолевые клетки характеризовались высокой экспрессией генов, указывающих на их пролиферативную активность. Для PCDH1<sup>+</sup>-опухолевых клеток была характерна гиперэкспрессия генов, вовлеченных в регуляцию клеточной миграции и метастазирования. В этом кластере обнаружен высокий уровень экспрессии генов *KLF4*, *ULK1* и *AHNAK2*, связанных с резистентностью к доксорубину, ифосфамиду и гемцитабину, по данным других работ.

**Заключение.** Исследованные СМТ характеризуются гетерогенным клеточным составом и иммуносупрессивным микроокружением. Экспрессия генов *LUM*, *GPNMB*, *CAVIN1*, *KLF4*, *ULK1* и *AHNAK2* наблюдается в случае недифференцированной плеоморфной саркомы с химиорезистентностью к 2 линиям ХТ.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 23-65-00003).*

## Изменение генетического ландшафта опухоли молочной железы под действием таксансодержащих схем неоадъювантной химиотерапии

Е.А. Кравцова, М.М. Цыганов, И.А. Пыленова,  
Д.С. Долгашева, Н.В. Литвяков, М.К. Ибрагимова

НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный  
исследовательский медицинский центр РАН», Томск  
e-mail: zdereva.e@gmail.com

**Цель исследования** — изучить изменение CNA-генетического ландшафта опухоли молочной железы при применении таксансодержащих схем неоадъювантной химиотерапии (НХТ) в зависимости от статуса гематогенного метастазирования.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 28 больных люминальным В HER2-негативным подтипом РМЖ IIА–IIIВ стадий. Все пациентки получали 4–8 курсов НХТ по схемам АСТ/АТ и таксотер в монорежиме. В качестве исследуемого материала были использованы биопсийные опухолевые образцы

(~10 мм<sup>3</sup>), взятые до лечения под ультразвуковым контролем, а также операционный материал (~60–70 мм<sup>3</sup>) после НХТ. Для анализа аберраций числа копий (Copy Number Aberration, CNA) проводили микроматричный анализ на ДНК-чипах высокой плотности фирмы Affymetrix (США) CytoScan™ HD Array. Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США).

**Результаты.** Проведен анализ распределения частоты встречаемости CNA в группах пациенток до и после лечения в зависимости от наличия гематогенного метастазирования. В исследуемой группе у 7 (25 %) больных было зарегистрировано гематогенное метастазирование (среднее время — 29,7 ± 1,3 мес (min/max — 11/68)).

В результате сравнения частоты встречаемости CNA в данных группах пациенток до лечения показано, что возникновение гематогенного метастазирования наблюдалось при большем количестве амплификаций в регионе 2p13.2 ( $p = 0,051$ ) и делеций в регионе 5p13.2 ( $p = 0,053$ ). Также возникновение гематогенного метастазирования наблюдалось при большем количестве амплификаций в 20q13.33 регионе (0 % — до лечения, 57,1 % — после НХТ;  $p = 0,00171$ ). Потенциально данный локус может выступать в качестве прогностического маркера у больных люминальным В HER2-негативным подтипом РМЖ при назначении таксансодержащих схем (АСТ/АТ, таксотер в монорежиме) НХТ.

**Заключение.** В результате представленного исследования был выявлен потенциальный прогностический маркер возникновения гематогенного метастазирования для люминального В HER2-негативного подтипа РМЖ при применении таксансодержащих схем в режиме НХТ.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 22-25-00499).*

## Анализ функциональной значимости герминативной мутации p.I171V гена NBN при репарации повреждений ДНК в культуре гепатомы человека HepG2

О.М. Кривцова<sup>1</sup>, Д.Д. Озерова<sup>1</sup>, Н.А. Дьякова<sup>1</sup>,  
Н.Л. Лазаревич<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва  
e-mail: o.m.krivtsova@gmail.com

**Введение.** Ранее нами было выявлено увеличение частоты встречаемости герминативной мутации p.I171V гена *NBN*, кодирующего компонент MRN-комплекса, который участвует в репарации двуцепочечных разрывов ДНК, среди пациентов с гепатоцеллюлярной



карциномой, однако функциональная значимость указанной мутации при данном заболевании изучена недостаточно.

**Цель исследования** — анализ влияния нокаута гена *NBN* и экспрессии его мутантного аллеля на способность клеток культуры гепатомы человека HepG2 к репарации повреждений ДНК.

**Материалы и методы.** Исследование проводили на культурах HepG2-Cas9, HepG2-Cas9 с нокаутом гена *NBN* и их производных, экспрессирующих дикий либо мутантный вариант. Повреждение ДНК индуцировали инкубацией с 20 мкМ блеомицина в течение 3 ч с последующей репарацией разрывов в течение 24 ч. Для блокировки цитокинеза при микроядерно-цитомном анализе клетки дополнительно инкубировали с 3 мкг/мл цитохалазина В в течение 24 ч.

**Результаты.** По результатам оценки повреждений ДНК на основании определения уровня маркера двуниевых разрывов  $\gamma$ H2A.X методом иммуноблоттинга, а также микроядерно-цитомного анализа как способа оценки хромосомных aberrаций установлено, что при нокауте гена *NBN* происходит снижение способности клеток HepG2 к репарации повреждений ДНК. При реэкспрессии как референсного, так и мутантного аллеля эта способность восстанавливается до уровня контрольной культуры. Доля бинуклеарных клеток, завершивших основные фазы митоза, но не прошедших цитокинез после обработки блеомицином, статистически значительно сокращается в культурах, нокаутных по гену *NBN*, а также в клетках, экспрессирующих *NBN*-p.I171V, что может косвенно свидетельствовать о сниженной способности к репарации ДНК у клеток с мутантным геном *NBN* при сохранении механизмов активации чекпойнтов клеточного цикла. Эти данные частично согласуются с результатами теста на ДНК-синтетическую активность клеток методом включения 5-BrdU, по которым через сутки после внесения повреждений в ДНК в нокаутных по гену *NBN* культурах доля клеток в S-фазе в 2 раза ниже, чем в культурах с экспрессией дикого типа. Доля клеток в S-фазе при экспрессии *NBN*-p.I171V ниже, чем у контрольных, но различие, демонстрируя тренд, не является статистически значимым.

**Закключение.** Нокаут или мутация гена *NBN* снижают долю клеток, прошедших основные фазы митоза, при повреждении ДНК. Однако в отличие от нокаута гена *NBN* мутация p.I171V оказывает незначительное влияние на способность HepG2 к репарации повреждений ДНК. Необходимо дальнейшее исследование для определения способности клеток с рассматриваемой мутацией к репарации путем гомологичной рекомбинации.

## Влияние хлорпирифоса, пендиметалина, манкоцеба, тирама и карбарила на гены процессов, ассоциированных с канцерогенезом

Е.С. Лылова<sup>1</sup>, А.Ю. Букина<sup>1,2</sup>, В.Г. Попова<sup>1</sup>, К.А. Зимин<sup>3</sup>,  
М.К. Хирин<sup>3</sup>, М.Г. Якубовская<sup>1</sup>, К.И. Кирсанов<sup>1,4</sup>,  
В.П. Максимова<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «МИРЭА — Российский технологический университет», Москва;

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова»  
Минздрава России, Москва;

<sup>4</sup>ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва  
e-mail: lavarvar@gmail.com

**Введение.** Пестициды могут обладать генотоксическими и мутагенными свойствами, а также индуцировать негенотоксические нарушения в клетке. Способность влиять на такие процессы, как пролиферация, репарация, воспаление и др., может быть одной из составляющих канцерогенного эффекта соединения. В 2020 г. Международное агентство по изучению рака определило одной из приоритетных целей получение механистических данных о действии хлорпирифоса, пендиметалина, манкоцеба, тирама и карбарила с точки зрения ключевых характеристик канцерогенов.

**Цель исследования** — анализ способности перечисленных пестицидов вызывать изменения экспрессии генов, вовлеченных в пролиферацию (12), репарацию (6), апоптоз (4), метаболизм (7), воспаление и эпигенетическую регуляцию транскрипции (8).

**Материалы и методы.** Влияние хлорпирифоса (10  $\mu$ M), пендиметалина (4  $\mu$ M), манкоцеба (0,2  $\mu$ M), тирама (2 nM) и карбарила (5  $\mu$ M) на экспрессию генов в клетках HaCaT анализировали при экспозиции 72 ч с помощью количественной ПЦР, статистически значимыми считали результаты с  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Под действием хлорпирифоса, тирама и карбарила не происходило изменений экспрессии генов метаболизма. Пендиметалин показал снижение экспрессии гена *GLUT3* в 2,6 раза, манкоцеб — слабое снижение гена *MCT1*. Изменение экспрессии генов пролиферации и репарации наблюдали под действием хлорпирифоса, пендиметалина и манкоцеба. Так, хлорпирифос снижал экспрессию гена *XRCC1* в 2,3 раза и повышал экспрессию гена *E2F4* в 2 раза, пендиметалин увеличивал экспрессию гена *ATR* в 2,4 раза. У манкоцеба наблюдали повышение экспрессии гена *CCNE1* в 1,8 раза, а гена *ATR* — в 2,4 раза. Также он влиял на экспрессию генов апоптоза: было показано снижение экспрессии гена *BCL2* в 3 раза.

Все пестициды изменяли экспрессию генов воспаления. Хлорпирифос и пендиметалин снижали экспрессию гена *TNFA* в 2 раза и оказывали менее выра-

женное действие на ген *COX2*. Тирам также слабо снижал экспрессию этого гена. Под влиянием пендиметалина, манкоцеба, тирама и карбарила наблюдали двукратное снижение экспрессии гена *IL1a*. Она возросла в 2,1 раза под действием хлорпирифоса и снижалась в 1,7 раза под действием тирама и карбарила. Изменение уровня экспрессии генов эпигенетической регуляции было отмечено у хлорпирифоса и манкоцеба. Так, первый слабо повышал экспрессию гена *DNMT3*, а второй снижал экспрессию гена *DNMT3A* в 1,9 раза.

**Закключение.** Таким образом, под действием пестицидов происходило изменение следующего числа генов: хлорпирифоса — 12 генов, пендиметалина — 9, манкоцеба — 8, тирама — 4, карбарила — 2. Наиболее выраженные изменения экспрессии наблюдали в группе генов воспаления. Так, хлорпирифос, пендиметалин и манкоцеб оказывали влияние на 5 и более процессов, что предполагает возможность их канцерогенной опасности и требует дополнительных исследований.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 23-25-00541).*

## Получение клеточных популяций MDA-MB-231 TI, A-549 TI, HCT116 TI для анализа эпигенетической активности ксенобиотиков

В.П. Максимова<sup>1</sup>, К.А. Зимин<sup>1,2</sup>, В.Г. Попова<sup>1,3</sup>,  
О.А. Власова<sup>1</sup>, А.А. Бурунова<sup>1</sup>, Т.Н. Заботина<sup>1</sup>, О.Г. Усалка<sup>4</sup>,  
И.А. Антонова<sup>1</sup>, Е.С. Лылова<sup>1</sup>, К.И. Кирсанов<sup>1,3</sup>,  
М.Г. Якубовская<sup>1,3</sup>

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

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

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов  
им. Патриса Лумумбы», Москва;

<sup>4</sup>факультет биологии Университета Тафтса, Медфорд, США  
e-mail: lavarvar@gmail.com

**Введение.** Эпигенетические эффекты выявлены менее чем для 2 % соединений, используемых в мире. Изучение эпигенетической токсичности ксенобиотиков осложняется постоянным ростом темпов их создания, производства и оборота, а также отсутствием регламентированных методов скрининга на подобную активность. Ранее нами была предложена тест-система для скрининга интегральной эпигенетической активности соединений на основе клеток HeLa TI, несущих эпигенетически репрессированный ген *GFP*. В 2022 г. в рамках совершенствования этой системы были получены генно-модифицированные клетки различного гистогенеза (MDA-MB-231, A-549, HCT116) с использованием конструкции на основе транспозона Sleeping beauty, содержащего репортерный ген *ZsGreen1*.

**Цель исследования** — получение клеточных популяций, стабильно реактивирующих экспрессию гена *ZsGreen1* в ответ на действие ингибитора HDACs — трихостатина А (TSA).

**Материалы и методы.** Сортировку клеток по *ZsGreen*<sup>+</sup>- и *ZsGreen*<sup>-</sup>-фенотипу осуществляли с помощью проточного цитометра FACS Aria II. Реактивацию экспрессии гена *ZsGreen1* оценивали по количеству клеток *ZsGreen*<sup>+</sup> и уровню флуоресценции с помощью проточной цитофлуориметрии. В ходе анализа стабильности реактивации экспрессии гена *ZsGreen1* клетки инкубировали с TSA в течение 24 ч, затем 24 ч со свежей средой. Статистически значимые эффекты ксенобиотиков выявляли с помощью анализа ANOVA.

**Результаты.** Для получения популяций TI с эпигенетически репрессированным геном *ZsGreen1* клетки 4 раза сортировали после обработки TSA (*ZsGreen*<sup>+</sup>) и 4 раза — после «замалчивания» экспрессии гена *ZsGreen1* (*ZsGreen*<sup>-</sup>). В интактных популяциях процент клеток, экспрессирующих белок *ZsGreen*, составлял от 0,4 до 2 %. Было показано, что после 2 раундов сортировки при действии 200, 100 и 50 нМ TSA доля *ZsGreen*<sup>+</sup>-клеток в популяциях TI составила: MDA-MB-231 (46, 21 и 8 % соответственно), A-549 (86, 35 и 10 %), HCT116 (18, 15 и 5 %); после 4 раундов: MDA-MB-231 (64, 57 и 27 % соответственно), A-549 (90, 73 и 17 %), HCT116 (84, 82 и 64 %). Анализ стабильности реактивации гена *ZsGreen1* проводили со 2-й по 5-ю нед после выведения клеток из разморозки. Динамика изменения количества *ZsGreen*<sup>+</sup>-клеток в популяции MDA-MB-231 TI под действием TSA (200, 100 и 50 нМ) по неделям была следующая: 2-я нед (30, 25 и 10 % соответственно), 3-я (19, 11 и 4 %), 4-я (16 и 5 %), 5-я (9, 8 и 4 %). Для клеток A-549 TI под действием тех же доз TSA были получены следующие данные (по неделям): 2-я нед (92, 64 и 24 % соответственно), 3-я (91, 43 и 14 %), 4-я (88, 52 и 14 %), 5-я (87, 55 и 16 %). Доля *ZsGreen*<sup>+</sup>-клеток в популяции HCT116 TI после обработки 100 и 50 нМ TSA по неделям составила: 2-я нед (71 и 40 % соответственно), 3-я (71 и 43 %), 4-я (69 и 34 %), 5-я (63 и 58 %).

**Закключение.** Были получены TI-популяции MDA-MB-231, A-549, HCT116, обогащенные клетками, способными дозозависимо реактивировать экспрессию гена *ZsGreen1* в ответ на действие TSA. Наибольшую чувствительность и стабильность проявили популяции клеток A-549 TI и HCT116 TI, сохраняющие чувствительность к TSA на протяжении 5 нед после выведения из разморозки. Полученные популяции могут быть использованы в качестве тест-системы для скрининга активности ингибиторов HDACs.

*Исследование выполнено в рамках кластерного проекта (заказ № 121120100382—1).*

## Анализ ассоциации полиморфного варианта rs149897324 гена *APLF* с риском развития рака яичника у женщин из Республики Башкортостан

Э.Т. Мингажева<sup>1</sup>, Я.В. Валова<sup>1,2</sup>, Н. Могадамхейдари<sup>1</sup>,  
Т.Р. Усманова<sup>1</sup>, Д.С. Прокофьева<sup>1</sup>, Е.А. Андреева<sup>1</sup>,  
Э.К. Хуснутдинова<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», Уфа;

<sup>2</sup>ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», Уфа;

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН», Уфа  
e-mail: Elvira.F91@mail.ru

**Введение.** Несмотря на успехи в области ранней диагностики РЯ, данное заболевание занимает лидирующую позицию по показателям смертности среди онкогинекологических патологий в большинстве развитых стран мира.

Одним из вероятных генов-кандидатов РЯ является ген *APLF*. Он кодирует нуклеазу, которая взаимодействует с белками XRCC1 и XRCC4 и таким образом участвует в восстановлении одно- и двунитевых разрывов ДНК. Установлено, что снижение уровня экспрессии гена *APLF* препятствует инвазивному, миграционному, онкогенному и метастатическому потенциалу клеток тройного негативного РМЖ с подавлением экспрессии генов, связанных с эпителиально-мезенхимальным переходом (ЭМП), при усилении регуляции мезенхимально-эпителиального перехода специфического гена Е-кадгерина (*CDH1*). Полиморфный вариант rs149897324 представляет собой делецию аденина в позиции 1528 кДНК гена *APLF*, что приводит к сдвигу рамки считывания и, следовательно, синтезу дефектного белка — p.Arg510fs.

**Цель исследования** — ассоциативный анализ варианта rs149897324 гена *APLF* 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 с установленным диагнозом РЯ ( $n = 209$ ) и женщин без онкологических заболеваний на момент забора крови ( $n = 208$ ) в возрасте 17–87 лет из Республики Башкортостан. Генотипирование проводилось с использованием системы высокопроизводительного ПЦР на жидкостных микрочипах Fluidigm BioMarkHD 192.24 SNPtype Genotyping Technology (Fluidigm, США).

**Результаты.** В проведенном нами исследовании среди больных РЯ и в контрольной группе вариант c.1528delA гена *APLF* был обнаружен у 7 пациенток (3,3 %) и 3 здоровых индивидов (1,44 %) в гетерозиготном состоянии. Однако статистически значимых различий по частоте варианта rs149897324 гена *APLF* среди исследуемых групп не обнаружено ( $p > 0,05$ ).

**Заключение.** Таким образом, нами не обнаружено ассоциаций варианта rs149897324 гена *APLF* с риском развития РЯ у женщин из Республики Башкортостан.

*Работа выполнена по государственному заданию Министерства науки и высшего образования РФ (соглашение № 075-03-2021-193/5).*

## Новый алгоритм выявления крупных геномных перестроек в данных полногеномного секвенирования с протяженными прочтениями Oxford Nanopore

Р.Е. Михеева<sup>1,2</sup>, А.А. Кечин<sup>1,2</sup>, М.А. Корюков<sup>1,2</sup>,  
М.Л. Филипенко<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск  
e-mail: mikheevare@yandex.ru

**Введение.** ДГР проявляется нарушением процессов репарации ДНК и разрешения остановившейся репликативной вилки, что ведет к накоплению LGR. Клетки опухоли с ДГР являются чувствительными к ингибиторам поли(АДФ-рибоза)-полимеразы, поэтому диагностика ДГР является важным показателем для назначения этого вида таргетной терапии. Одним из наиболее эффективных способов выявления LGR является секвенирование с протяженными прочтениями, однако алгоритмы обнаружения LGR в данных, полученных этим методом, остаются недостаточно оптимизированными, в особенности для детекции соматических перестроек.

**Цель исследования** — разработка и валидация алгоритма детекции LGR различного типа в данных секвенирования с использованием оксфордских нанопористых технологий (Oxford Nanopore Technologies).

**Материалы и методы.** Программа была разработана на языке программирования Python 3.10. Для валидации алгоритма использовались собственные данные (1 образец ДНК — из лейкоцитов крови и 1 — из клеток РЯ), а также данные секвенирования с помощью оксфордских нанопористых технологий клеточной линии NA12878, для которого известно более 12000 ранее подтвержденных LGR.

**Результаты.** Разработанный алгоритм позволяет выявлять LGR разных типов в данных полногеномного секвенирования с помощью оксфордских нанопористых технологий с оценкой показателей, характерных для перестроек при ДГР (например, наличие микрогомологии или гомеологии). На данных образца NA12878 алгоритм детектировал наибольший процент ранее подтвержденных герминальных LGR (82,9 %) по сравнению с дру-

гими программами: sniffles2 — 68,9 %, NanoVar — 68,1 %, SVIM — 79,6 %. Для проверки работы нового алгоритма на собственных данных секвенирования было отобрано 178 LGR, присутствующих в 2 образцах опухоли с мутацией в гене *BRCA1*. Для них была проведена валидация с помощью количественной ПЦР и гель-электрофореза, а также секвенирования по Сэнгеру. Всего были подтверждены 50 перестроек: 20 делеций, 6 транслокаций, 5 инсерций, 8 инверсий, 3 tandemных дупликации и 8 инвертированных tandemных дупликаций. Из 128 неподтвержденных перестроек 111 составили инвертированные tandemные дупликации, из чего можно сделать вывод, что большинство из них являются артефактами данной технологии секвенирования.

**Заключение.** Новый алгоритм выявляет больший процент перестроек и позволяет отбирать перестройки, характерные для ДГР.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 23-74-01138).*

## Новый ген-кандидат рака молочной железы *LAMA5* у пациентки якутской этнической группы

А.Ю. Молоков<sup>1</sup>, П.А. Гервас<sup>1</sup>, Д.Г. Тихонов<sup>2</sup>,  
Н.В. Чердынцева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», Якутск  
e-mail: amolokov@inbox.ru

**Введение.** РМЖ занимает лидирующие позиции по уровню заболеваемости во всем мире. В настоящий момент идет активное исследование генов, вовлеченных в патогенез РМЖ, с учетом этнической принадлежности пациентов.

**Цель исследования** — поиск новых генов, ассоциированных с наследственным РМЖ, у пациенток якутской этнической группы.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 10 пациенток с диагнозом РМЖ в возрасте до 50 лет и отягощенным семейным анамнезом, принадлежащих к якутской этнической группе. Материалом для исследования служила геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови. ДНК-библиотеки подготавливали с использованием набора BGI Optimal DNA Library Prep Kit, для гибридизации использовали зонды Agilent SureSelect Human All Exon V6. Секвенирование проводилось на платформе DNBSeg-G400.

**Результаты.** По результатам биоинформатического анализа данных секвенирования нового поколения (NGS) у 41-летней пациентки якутской этнической группы с отягощенным семейным анамнезом была

обнаружена вероятно патогенная мутация гена *LAMA5* (rs769916610, NM\_005560: exon34: c.G4315A: p.G1439S). В базе данных GnomeAD (Genome Aggregation Database, база данных по агрегации геномов) данная мутация описана с низкой популяционной частотой 0,000024 по всему миру. Согласно данным архива dbClinVar, эту мутацию связывают с наследственным нефротическим синдромом (Центр точной медицины Университета Чжэнчжоу, Китай), а также, согласно литературе, данный ген связан с колоректальным раком (КРР), РЯ и РМЖ через сигнальный путь Notch.

**Заключение.** Впервые у пациентки, принадлежащей к якутской этнической группе, с диагнозом РМЖ и отягощенным онкоанамнезом была обнаружена вероятно патогенная герминальная мутация гена *LAMA5* (rs769916610), которая может быть вовлечена в патогенез наследственного РМЖ. Значимость данной мутации в патогенезе РМЖ необходимо подтвердить на расширенной выборке пациенток с аналогичным диагнозом и здоровых женщин якутской этнической группы.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 22-25-20032).*

## Новые потенциальные микроРНК-маркеры для диагностики герминогенных опухолей яичек

К.С. Немцева, С.В. Винокурова, Н.В. Елкина,  
М.Д. Федорова, В.Б. Матвеев

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва  
e-mail: karoline11111@mail.ru

**Введение.** Точность диагностики герминогенных опухолей яичек (ГОЯ) определяет терапевтический вектор, что является залогом полного излечения заболевания. Классические биомаркеры (альфа-фетопротеин, бета-хорионический гонадотропин и лактатдегидрогеназа) являются единственным инструментом в диагностике ГОЯ, однако их относительно низкая чувствительность и специфичность ограничивают их использование. Анализ современной литературы свидетельствует о возможности применения микроРНК в качестве альтернативы биохимических маркеров.

**Цель исследования** — выявление и анализ новых микроРНК для диагностики ГОЯ.

**Материалы и методы.** В исследование были включены пациенты с диагнозом ГОЯ, получившие лечение на базе НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина с 2020 по 2023 г. Проведен анализ 45 парных случаев опухолевых и условно нормальных тканей яичка (чистая семинома,  $n = 20$ , несеминома (эмбриональный рак, опухоли смешанного строения),  $n = 25$ ). РНК из тканей выделяли с помощью набора Total Exosome RNA & Protein



Isolation Kit (Вильнюс, Литва) в соответствии с протоколами производителя. Анализ микроРНК проведен с помощью ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР).

**Результаты.** По данным секвенирования микроРНК выборки Cancer Genome Atlas (Атлас генома рака) были отобраны miR-196a-5p, miR-105-5p, miR-200b-3p с дифференциальной экспрессией в образцах опухолевой ткани между различными гистотипами ГОЯ.

В нашем исследовании было выявлено, что уровни miR-105-5p значительно повышены в ГОЯ по сравнению с нормальными тканями ( $p < 0,05$ ), что позволяет дифференцировать эти 2 группы с чувствительностью и специфичностью 96,9 % независимо от гистотипа ГОЯ. Анализ экспрессии miR-196a-5p и miR-200b-3p показал статистически значимую разницу как в группах с нормальной и опухолевой тканью, так и в группах семинома и несеминома ( $p < 0,0001$  и  $p < 0,0007$  соответственно), что дает возможность использовать эти микроРНК в дифференциальной диагностике основных морфологических типов ГОЯ. В последней группе сравнения для miR-200b-3p чувствительность и специфичность составили 89 и 68 % соответственно, для miR-196a-5p — 89 и 94 %.

**Заключение.** В рамках настоящего исследования впервые продемонстрировано, что miR-105-5p, miR-196a-5p и miR-200b-3p обладают высоким диагностическим потенциалом при выявлении различных гистотипов ГОЯ, что делает их перспективными биомаркерами, в том числе с потенциалом использования в жидкостной биопсии.

## Распространенность гаплотипа гена *ATM*, ассоциированного с онкологической патологией, в коренном народонаселении Северной Евразии

М.В. Олькова, Г.Ю. Пономарев, А.А. Алимов  
ФГБНУ «Медико-генетический научный центр  
им. акад. Н.П. Бочкова», Москва  
e-mail: genetics@inbox.ru

**Введение.** В настоящее время известно, что некоторые полиморфные варианты гена *ATM* ассоциированы с риском развития РМЖ, рака поджелудочной железы, РЯ, рака предстательной железы (РПЖ) и др. Выявлены аллельные варианты данного гена для носителей, которым не рекомендовано лечение ионизирующей радиацией.

**Цель исследования** — идентификация в популяциях Северной Евразии гаплотипов гена *ATM*, включающих аллели полиморфных локусов, сопряженных с риском онкологической патологии человека без проявления симптомов, характерных для атаксии-телеангиэктазии.

**Материалы и методы.** Аллельные варианты по 5 полиморфным локусам гена *ATM* (rs189037, rs609261, rs664143, rs227092, rs4585) получены в результате генотипирования 1975 образцов ДНК представителей основных коренных народов Северной Евразии (27 метапопуляций, размер выборки — от 41 до 129 человек). Генотипирование проведено с помощью системы Infinium Omni5Exome BeadChip Kit (Illumina). Расчет популяционных частот аллелей и неравновесия по сцеплению выполнен с использованием программного обеспечения Rstudio (R version 4.3.0), пакет SNPStats.

**Результаты.** Показано, что все 5 исследуемых полиморфных вариантов имеют высокое неравновесие по сцеплению ( $r^2$  от 0,81 до 0,98) и образуют 2 гаплотипа (H1 и H2) с взаимоисключающими аллельными вариантами. Аллельные варианты гаплотипа H1 не связаны с развитием онкологических заболеваний. Гаплотип H2 образован аллелями, ассоциированными с риском развития онкопатологии без проявления синдрома Луи-Бар у гомозиготных носителей. Популяционная частота гомозигот по H2 в исследованных популяциях колеблется от 17 % у халха-монголов и до 50 % у народов Закавказья. Высокие частоты гомозигот по гаплотипу H2 наблюдаются также в метапопуляциях тувинцев, тофаларов — 47 %, марийцев, чувашей — 43 % и чукчей, коряков, ительменов — 41 %.

**Заключение.** Полученные сведения актуальны для корректного и рационального комплексного планирования профилактики онкологических заболеваний в регионах РФ.

## Геномное профилирование параганглиом головы и шеи

В.С. Павлов<sup>1</sup>, М.С. Федорова<sup>1</sup>, Г.С. Краснов<sup>1</sup>,  
Д.В. Калинин<sup>2</sup>, М.С. Ланцова<sup>1</sup>, А.В. Кудрявцева<sup>1</sup>,  
А.В. Снежкина<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского»  
Минздрава России, Москва  
e-mail: leftiger@rambler.ru

**Введение.** Параганглиомы головы и шеи (ПГШ) являются редкими нейроэндокринными опухолями человека. Из них около 40 %, наряду с родственными феохромоцитомами, связаны с наследственными мутациями в 12 известных генах предрасположенности. Однако из-за редкости заболевания генетический профиль ПГШ остается малоизученным. Исследование таких нарушений при ПГШ необходимо для понимания биологии этих опухолей, развития методов молекулярной диагностики и таргетной терапии.

**Цель исследования** — идентификация спектра генетических вариантов в новых генах, вовлеченных в патогенез ПГШ.

**Материалы и методы.** Архивная коллекция 152 опухолевых тканей собрана и охарактеризована в НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского Минздрава России. Для всех образцов выполнено экзомное секвенирование на приборе Illumina NextSeq 500. Для идентификации вариантов использовали программы HaploTypeCaller, FreeBayes, Strelka2 и VarDict, для аннотации — программу ANNOVAR. Для оценки патогенности применяли критерии ACMG/AMP-2015. Анализ функциональных ассоциаций между генами выполнен с использованием баз данных STRING и KEGG.

**Результаты.** Идентифицировано 53 потенциально патогенных варианта в 36 различных генах; 94 % всех вариантов составили миссенс-мутации. Варианты в генах *LRFN4*, *ARNT*, *TP53BP2* и *MYH3* выявлены впервые при парагангиомах/феохромocyтoмах. В генах *ARNT*, *IDH2*, *L2HGDH*, *MYH3*, *PIK3CA* и *TERT* обнаружены клинически значимые мутации. Функциональный анализ выявил множество белок-белковых взаимодействий между генами, большинство из которых вовлечены в метаболические пути (цикл Кребса, метаболизм углерода, пирувата, гликолиз и глюконеогенез) и онкоассоциированные сигнальные пути (HIF-1, PI3K-Akt, FoxO, AMPK, MAPK и Ras).

**Закключение.** Обнаруженные варианты в большом числе разных генов могут свидетельствовать о высокой гетерогенности ПГШ и различных путях развития заболевания.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 24-14-00439) на оборудовании ЦКП «ГЕНОМ» ИМБ РАН.*

## Ассоциация полиморфизма гена *LGALS1* с содержанием галектина 1 в опухолевой ткани и крови у больных раком толстого кишечника

В.С. Полетика<sup>1</sup>, Г.В. Рейнгардт<sup>2</sup>, О.И. Уразова<sup>1</sup>,  
Ю.В. Колобовникова<sup>1</sup>, А.В. Курносенко<sup>1,2</sup>, О.А. Васильева<sup>1</sup>,  
А.В. Августининович<sup>3</sup>

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

<sup>2</sup>ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер», Томск;

<sup>3</sup>НИИ онкологии ФГБУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск  
e-mail: vpoletika@yandex.ru

**Цель исследования** — проанализировать взаимосвязь содержания галектина 1 в ткани опухоли и плазме крови с генотипом полиморфных вариантов rs4820293 и rs4820294 гена *LGALS1* у больных раком толстого кишечника (РТК).

**Материалы и методы.** Обследованы 70 больных с диагнозом РТК (код по МКБ С18—С20) — 39 мужчин и 31 женщина (средний возраст 65,4 ± 5,7 года), находившиеся на стационарном лечении в Томском област-

ном онкологическом диспансере и НИИ онкологии Томского НИМЦ в период с 2020 по 2023 г. Диагноз был верифицирован морфологическими методами. Критерии исключения: предоперационная терапия, новообразования других локализаций, инфекционные, аллергические и аутоиммунные заболевания в стадии обострения. Контрольную группу составили 70 здоровых добровольцев, сопоставимых по возрасту и полу.

Материалами исследования были венозная кровь и образцы опухолевой ткани у больных РТК. Экспрессию галектина 1 в опухоли определяли иммуногистохимическим (ИГХ) методом, а концентрацию в плазме крови — методом иммуноферментного анализа (ИФА). Полиморфные варианты rs4820293 и rs4820294 гена *LGALS1* исследовали методом анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов. Результаты статистического анализа считали значимыми при уровне  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Распределение частоты генотипов и аллелей полиморфных вариантов rs4820293 и rs4820294 гена *LGALS1* у больных РТК и здоровых доноров было сопоставимым ( $p > 0,05$ ). Анализ величины отношения шансов не подтвердил связь между полиморфными вариантами гена *LGALS1* и развитием РТК. При этом у носителей полиморфизма rs4820294 имелась сильная связь с регионарным метастазированием и степенью дифференцированности опухоли (значение критерия V Крамера  $> 0,4$  при  $p < 0,001$ ). Плазменная концентрация галектина 1 у больных РТК с генотипом AA полиморфизма rs4820294 оказалась выше, чем у здоровых носителей (17,42 против 12,92 нг/мл;  $p = 0,04$ ). Статистически значимых различий в содержании галектина 1+ клеток в опухоли и галектина 1 плазмы крови у пациентов с РТК в зависимости от генотипа полиморфных вариантов гена *LGALS1* выявлено не было ( $p > 0,05$ ).

**Закключение.** Полиморфизм гена *LGALS1* не связан с развитием РТК, но у носителей полиморфизма rs4820294 имеет связь с клинико-морфологическими параметрами новообразования. Внутриопухолевая экспрессия галектина 1 и его содержание в крови у пациентов с РТК не зависят от генотипа полиморфных вариантов rs4820293 и rs4820294 гена *LGALS1*.

## Роль метилирования группы апоптоз-ассоциированных белок-кодирующих генов и генов длинных некодирующих РНК в нарушении их экспрессии при раке молочной железы

Ал.Д. Селезнева<sup>1</sup>, С.С. Лукина<sup>1</sup>, Ан.Д. Селезнева<sup>1</sup>,  
И.В. Пронина<sup>1</sup>, Т.П. Казубская<sup>2</sup>, А.М. Бурденный<sup>1</sup>,  
В.И. Логинов<sup>1</sup>

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

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

Минздрава России, Москва  
e-mail: alenaselezneva2000@mail.ru

**Цель исследования** — изучение изменений уровня метилирования и экспрессии группы белок-кодирующих генов системы апоптоза и генов днРНК при РМЖ.

**Материалы и методы.** Парные образцы опухолей РМЖ (47 образцов) были собраны и клинически охарактеризованы в НИИ клинической онкологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. Анализ уровней метилирования и экспрессии проводили методом ПЦР-PB с использованием набора qPCRmix-HS SYBR по протоколу фирмы «Евроген» в системе Bio-Rad CFX96 Real-Time PCR Detection System (США). Все статистические расчеты проводили в программе IBM SPSS Statistics 29. Использовали критерий Манна–Уитни и коэффициент корреляции Спирмена.

**Результаты.** Нами было показано статистически значимое увеличение уровня метилирования генов *APAF1*, *BAX* и *BIM*, *ADAMTS9-AS2* и *HAND2-AS1* и статистически значимое снижение уровня экспрессии генов *APAF1* и *ADAMTS9-AS2* в опухолевой ткани молочной железы по сравнению с прилежащей гистологически нормальной тканью. Выявлены статистически значимые ассоциации уровня метилирования генов *BAX*, *APAF1*, *HAND2-AS1* и *ADAMTS9-AS2* со стадией, *HAND2-AS1* — с размером опухоли, *BIM* — с наличием метастазов в лимфатических узлах. Кроме того, были обнаружены ассоциации уровня экспрессии генов *BIM* и *APAF1* со стадией опухоли и ее размером. Показана значимая отрицательная корреляция между изменением статуса метилирования промоторных CpG-островков генов *APAF1*, *BAX* и *ADAMTS9-AS2* и изменением уровня их экспрессии. Обнаружено однонаправленное изменение уровня метилирования генов *ADAMTS9-AS2* — *BIM/APAF1/BAX* и экспрессии генов *ADAMTS9-AS2* — *BAX*.

**Заключение.** Полученные нами результаты позволяют предположить, что aberrантная экспрессия исследуемых генов вовлечена в возникновение и прогрессию РМЖ, а изменение ее уровня, вероятно, связано с изменением уровня метилирования этих генов. Эти данные указывают на возможность использования исследуемых генов в качестве биомаркеров для диагностики и прогноза течения РМЖ.

Исследование выполнено при поддержке  
Министерства науки и высшего образования РФ  
учреждению ФГБНУ «НИИОПП»  
(государственное задание № FGUFU-2022-0007).

## Аберрантное метилирование и экспрессия белок-кодирующих генов системы деметилирования и генов длинных некодирующих РНК при светлоклеточном раке почки

Ан.Д. Селезнева<sup>1</sup>, Н.А. Иванова<sup>1</sup>, Ал.Д. Селезнева<sup>1</sup>,  
И.В. Пронина<sup>1</sup>, Т.П. Казубская<sup>2</sup>, А.М. Бурденный<sup>1</sup>,  
В.И. Логинов<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Блохина» Минздрава России  
e-mail: nata-i@list.ru

**Цель исследования** — изучение роли изменений уровня метилирования и экспрессии белок-кодирующих генов *TET1*, *TET2* и генов днРНК *ADAMTS9-AS2*, *SNHG6*, *GAS5* в патогенезе светлоклеточного рака почки (РП).

**Материалы и методы.** В работе использовали парные образцы операционного материала (опухоль/прилежащая гистологически нормальная ткань) от 47 пациентов с диагнозом «светлоклеточный РП», которые были собраны и клинически охарактеризованы в НИИ клинической онкологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. Уровень метилирования анализировали с помощью количественной метилспецифичной ПЦР-PB. Оценку уровня экспрессии генов осуществляли методом ПЦР-PB с использованием набора qPCRmix-HS SYBR по протоколу фирмы «Евроген» в системе Bio-Rad CFX96 Real-Time PCR Detection System (США). Все статистические расчеты проводили в программе IBM SPSS Statistics 29. Использовали критерий Манна–Уитни и коэффициент корреляции Спирмена.

**Результаты.** Показано статистически значимое увеличение уровня метилирования и снижение уровня экспрессии генов *TET1*, *ADAMTS9-AS2*, *SNHG6* и *GAS5* в ткани опухоли больных светлоклеточным ПКР по сравнению с нормальной тканью. Обратная тенденция касательно экспрессии отмечена у гена *TET2*. Установлены значимые ассоциации статуса метилирования генов *TET1*, *ADAMTS9-AS2*, *SNHG6* с размером первичной опухоли, а также перечисленных генов и гена *GAS5* со стадией заболевания и наличием метастазов в лимфатических узлах. Выявлено статистически значимое снижение уровня экспрессии гена *ADAMTS9-AS2* на более поздних (III–IV) стадиях заболевания, а гена *SNHG6* — при увеличении размера новообразования. Кроме того, установлена достоверная корреляция между уровнями метилирования промоторных областей для 3 пар генов днРНК — белок-кодирующий ген (*ADAMTS9-AS2/SNHG6* — *TET1*, *GAS5* — *TET2*) и меж-



ду уровнями экспрессии для 2 пар генов днРНК — белок-кодирующий ген (*GAS5* — *TET1*, *SNHG6* — *TET2*).

**Заключение.** Результаты исследования позволяют предположить возможный вклад aberrантного метилирования белок-кодирующего гена *TET1* и генов днРНК *ADAMTS9-AS2*, *SNHG6*, *GAS5* в возникновение и прогрессирование светлоклеточного РП, а также указывают на потенциальную применимость выявленных закономерностей в прогностике и диагностике данного заболевания.

*Исследование выполнено при поддержке  
Министерства науки и высшего образования РФ  
учреждению ФГБНУ «НИИОПП»  
(государственное задание № FGFU-2022-0007).*

### Мутационный статус генов системы гомологичной рекомбинации в процессе неоадьювантной химиотерапии у больных немелкоклеточным раком легкого

И.А. Цыденова<sup>1-3</sup>, Е.О. Родионов<sup>1</sup>, Е.А. Кравцова<sup>1,2</sup>,  
Д.С. Долгашева<sup>1,2</sup>, А.А. Мох<sup>1</sup>, М.К. Ибрагимова<sup>1-3</sup>,  
М.М. Цыганов<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный  
исследовательский медицинский центр РАН», Томск;  
<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский  
государственный университет», Томск;  
<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский  
университет» Минздрава России, Томск  
e-mail: tsydenova422@gmail.com

**Введение.** В настоящее время установлено, что формирование ДГР возможно за счет различных нарушений в системе репарации ДНК: доказанным фактом является наличие герминальных мутаций в генах *BRCA1/2*, и, соответственно, открытым остается вопрос о влиянии других нарушений в генах гомологичной рекомбинации.

**Цель исследования** — оценка изменения параметров генов системы гомологичной рекомбинации в процессе ХТ у больных НМРЛ.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 18 больных НМРЛ IIА–IIВ стадии с морфологически верифицированным диагнозом. Микроматричный анализ проводили на микроматрицах высокой плотности фирмы Affymetrix CytoScan HD Array. Уровень экспрессии генов гомологичной рекомбинации оценивали при помощи метода обратной транскрипции ПЦР. Оценку мутаций в опухоли проводили при помощи секвенирования на MiSeq™ Sequencing System.

**Результаты.** Анализ связи aberrаций с эффективностью ХТ показал статистически значимые различия ( $p = 0,008$ ): при частичной регрессии превалирует де-

лация гена *BRCA1* (80 %, 4 из 5 больных). В процессе ХТ у одного пациента наблюдалось изменение амплификации на делецию (стабилизация и отсутствие метастазирования), у второго — изменение амплификации на нормальную копийность (стабилизация и отсутствие метастазирования). Наиболее частыми мутациями в генах гомологичной рекомбинации по результатам секвенирования являются *BRCA1*, *BRCA2*, *RPA1* и *TP53*. Все найденные мутации *BRCA1* и *BRCA2* имеют доброкачественное клиническое значение, кроме мутации гена *BRCA2* rs80359254 (с.9934 А>G (p.Ile3312Val) с противоречивой интерпретацией патогенности, которая появилась у пациента после терапии. В дальнейшем у пациента наблюдались стабилизация и метастазирование. Что касается мутаций других генов гомологичной рекомбинации, были найдены интересные закономерности. У пациентов при сохранении *RAD54L* rs1048771 наблюдалась частичная регрессия, а элиминация была ассоциирована со стабилизацией. При появлении *MRE11A* rs137868143 наблюдались частичная регрессия и отсутствие метастазов. Появление rs1800058 было ассоциировано со стабилизацией и метастазированием. Патогенная мутация гена *TP53* rs28934578 наблюдалась у пациента со стабилизацией и метастазами. Возникновение rs76045215 и rs77183579 в гене *CHEK1* также наблюдалось у пациентов со стабилизацией и метастазами.

**Заключение.** В процессе неоадьювантной ХТ происходит изменение мутационного статуса генов гомологичной рекомбинации у больных НМРЛ и обнаруживается связь мутационного статуса с эффективностью лечения.

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

## Секция II

Молекулярные механизмы прогрессии  
и метастазирования опухолейКомпоненты ядерного сегмента пути  
Wnt/ $\beta$ -catenin в опухолевых клетках  
асцита при раке яичника

Т.В. Абакумова<sup>1</sup>, Д.Р. Долгова<sup>1</sup>, И.Р. Мягдиева<sup>1</sup>,  
И.И. Антонеева<sup>1,2</sup>, Т.П. Генинг<sup>1</sup>, Р.Ш. Зайнеева<sup>1</sup>,  
Ю.С. Слесарева<sup>1</sup>

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

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

e-mail: taty-abakumova@yandex.ru

**Введение.** Канонический путь Wnt/ $\beta$ -catenin в основном контролирует пролиферацию клеток и включает ядерную транслокацию  $\beta$ -catenin и активацию генов-мишеней с помощью факторов транскрипции TCF/LEF. Последние активируют протоонкогены, такие как циклин D и c-Мус. Показано, что изменения, влияющие на белки пути Wnt на клеточной мембране, в цитоплазме и ядре, играют существенную роль в канцерогенезе при РЯ.

**Цель исследования** — изучить экспрессию  $\beta$ -catenin и факторов транскрипции TCF7 и LEF1 в различных популяциях опухолевых клеток асцита при РЯ.

**Материалы и методы.** Исследование проведено с участием 30 пациенток (медиана возраста 67 лет) с диссеминированным РЯ III–IV стадий по FIGO, получавших лечение в Областном клиническом онкологическом диспансере (г. Ульяновск). До начала лечения опухолевые клетки асцита разделяли с применением меченых магнитных частиц на популяции, экспрессирующие EpCam-CK18-E-cadherin, EpCam-CK18-Vimentin, EpCam-CK18-Vim-CD44-CD133. После ХТ по схеме ТР-ХТ пациенты были разделены на 2 группы: 1 — прогрессирование на фоне ХТ; 2 — рецидив после 6 мес и более после окончания ХТ. После выделения нуклеиновых кислот из образцов опухолевых клеток была проведена оценка экспрессии  $\beta$ -catenin, TCF7 и LEF1 методом количественной ПЦР с нормализацией через ген *GAPDH*. Обработка данных проведена с использованием пакета Statistica 13.0.

**Результаты.** Установлено, что экспрессия фактора транскрипции LEF1 значимо повышена в опухолевых клетках с фенотипом стволовости у пациенток с прогрессированием опухолевого процесса на фоне ХТ

( $p = 0,050$ ). Также в этой группе значимо повышена экспрессия  $\beta$ -catenin ( $p = 0,025$ ) по сравнению с опухолевыми клетками пациенток группы 2 с рецидивом после 6 и более месяцев после окончания ХТ. Достоверных различий экспрессии  $\beta$ -catenin, TCF7 и LEF1 между опухолевыми клетками популяций EpCam-CK18-E-cadherin и EpCam-CK18-Vimentin не обнаружено.

Также в опухолевых клетках асцита пациенток обеих обследованных групп во всех 3 изученных популяциях установлены сильные корреляционные связи между  $\beta$ -catenin и факторами транскрипции.

В 1-й группе пациенток в популяции EpCam-CK18-E-cadherin-клеток коэффициент корреляции ( $r$ ) между  $\beta$ -catenin и LEF1/TCF-7 равен 0,982,  $p = 0,001$ ; в популяции EpCam-CK18-Vimentin-клеток  $r = 0,900$  ( $\beta$ -catenin-LEF1/TCF-7),  $p = 0,001$ ; в популяции EpCam-CK18-Vim-CD44-CD133-клеток  $r = 0,985$  ( $\beta$ -catenin-LEF1),  $p = 0,001$ ,  $r = 0,866$  ( $\beta$ -catenin-TCF-7),  $p = 0,001$ .

Во 2-й группе пациенток: в популяции EpCam-CK18-E-cadherin-клеток  $r = 0,996$  ( $\beta$ -catenin-LEF1/TCF-7),  $p = 0,001$ ,  $r = 0,642$  ( $\beta$ -catenin-TCF-7),  $p = 0,033$ ; в популяции EpCam-CK18-Vimentin-клеток  $r = 0,798$  ( $\beta$ -catenin-LEF1),  $p = 0,002$ ,  $r = 0,800$  ( $\beta$ -catenin-TCF-7),  $p = 0,003$ ; в популяции EpCam-CK18-Vim-CD44-CD133-клеток  $r = 0,948$  ( $\beta$ -catenin-LEF1),  $p = 0,001$ ,  $r = 0,961$  ( $\beta$ -catenin-TCF-7),  $p = 0,001$ .

**Заключение.** Выявленные корреляции указывают на высокую степень ассоциации компонентов ядерного сегмента Wnt/ $\beta$ -catenin пути в популяциях опухолевых клеток асцита с фенотипами EpCam-CK18-E-cadherin; EpCam-CK18-Vimentin; EpCam-CK18-Vim-CD44-CD133 при РЯ. Повышенная экспрессия  $\beta$ -catenin и фактора транскрипции LEF1 в EpCam-CK18-Vim-CD44-CD133-клетках асцита определяет при РЯ низкую чувствительность к ТР-ХТ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ  
(грант № 24-25-00269).

## Анализ уровней белков – ключевых участников окислительного фосфорилирования в клеточных линиях первичного и метастатического колоректального рака

В.А. Алексеева, Г.Р. Шарапова, Н.В. Калачева

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

**Введение.** Метастазы являются основной причиной смерти у большинства пациентов с раком. Несмотря на множество исследований, борьба с метастазами остается одной из главных проблем терапии опухолей. Многие метастазы демонстрируют изменения в метаболизме по сравнению с опухолями, из которых они происходят, что обеспечивает их выживание и рост в новой среде. Исследование особенностей метаболизма в метастатических опухолях и нацеливание на новые метаболические признаки поможет предотвратить их распространение на ранних стадиях.

**Цель исследования** — анализ уровней белков — ключевых участников окислительного фосфорилирования в клеточных линиях первичного и метастатического КРР.

**Материалы и методы.** В работе были исследованы клеточные линии, выделенные из толстой кишки (SW480) и лимфатических узлов (SW620) мужчины, больного КРР. Клетки выращивали в стандартных условиях в полной среде DMEM/F 12. Уровни специфических белков определяли методом вестерн-блот с помощью коктейля антител Total OXPHOS cocktail (Abcam), который включает антитела к субъединицам комплексов митохондриальной электронно-транспортной цепи — комплексов IV (COX II), III (UQCRC2), II (SDHB), I (NDUFB8) и окислительного фосфорилирования V (ATP5A).

**Результаты.** Выявлено статистически значимое увеличение количества всех исследуемых белков в клеточной линии метастатического рака, что указывает на усиление экспрессии генов, кодирующих соответствующие белки. Наиболее значительное увеличение экспрессии наблюдалось для белков ATP5A и UQCRC2 — соответственно, в 13,1 и 15,7 раза выше по сравнению с линией SW480.

**Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о существенном сдвиге энергетических процессов в сторону окислительного фосфорилирования в клеточной линии метастатического КРР. При этом белки ATP5A и UQCRC2 играют ключевую роль в физиологии клеток этого рака. Очевидно, что подобные изме-

нения в метаболизме важно учитывать при подборе схемы лечения КРР на стадии метастазирования.

*Работа выполнена при поддержке Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).*

## Профиль нейтрофилов селезенки мышей-опухоленосителей с лимфосаркомой RLS40 и карциномой легкого Льюиса

Л.А. Алексеева<sup>1</sup>, Х. Сунбули<sup>2</sup>, Н.Л. Миронова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск;  
<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск  
e-mail: alekseeva.mila.23@yandex.com

**Введение.** Нейтрофилы играют важную роль во врожденном иммунитете, осуществляя антипатогенную активность фагоцитозом, дегрануляцией и образованием нейтрофильных внеклеточных ловушек. Одним из депо нейтрофилов является селезенка, и при развитии опухоли в ней накапливаются опухолеассоциированные нейтрофилы, однако информация об их фенотипах остается скудной.

**Цель исследования** — изучение профилей нейтрофилов селезенки мышей с резистентной лимфосаркомой RLS40, склонной к спонтанной редукции, или эпителиальной карциномой легкого Льюиса (LLC).

**Материалы и методы.** Мышам вводили клетки RLS40 или LLC для формирования солидных опухолей. Начиная с 4-го дня мышам лечили ДНКазой I (1–50 ед. ак/мышь). На 7–21-й день развития опухоли у мышам забирали селезенку для выделения нейтрофилов. Профиль нейтрофилов определяли с помощью проточной цитометрии и количественной ПЦР-РВ.

**Результаты.** При развитии RLS40 в селезенках появлялись нейтрофилы, экспрессирующие Pdl1 и Fas (8 %). Однако на 21-й день развития опухоли они встречались только у мышам с редуцированными опухолями (13 %). У мышам в ответ на лечение ДНКазой снижался размер опухоли и популяция нейтрофилов с Pdl1 и Fas возрастала до 40 %. По результатам количественной ПЦР-РВ у нейтрофилов селезенки при развитии RLS40 повышался уровень матричной РНК (мРНК) проопухолевых маркеров Arg1 и Stat3. У нейтрофилов селезенки мышам с редуцированными опухолями после лечения ДНКазой повышался уровень мРНК противоопухолевых Sirt1, Foxo4 и Mmp9, Ccl17.

У мышам с LLC в селезенке накапливались нейтрофилы, экспрессирующие Pdl1 (7 %), но не FAS. Кроме того, повышался уровень мРНК Mmp9, Ccl17, Vegfa. ДНКазой оказывала слабое влияние на размер опухоли.

ли и профиль нейтрофилов селезенки относительно контрольной группы.

**Заключение.** При развитии опухоли эпителиально-го и иммунного происхождения в селезенке накапливаются нейтрофилы проопухолевого профиля. В ответ на лечение ДНКазой I и при спонтанной редукции в селезенке появляются нейтрофилы противоопухолевого фенотипа.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 22-14-00289).*

## Роль белка межклеточного контакта клаудина 1 в резистентности гастроинтестинальных стромальных опухолей к иматинибу мезилату

Ф.Ф. Бикиниева<sup>1</sup>, П.Д. Дунаев<sup>1</sup>, С.В. Бойчук<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования»

Минздрава России, Москва  
e-mail: firuza1995@mail.ru

**Введение.** Известно, что клаудины являются одним из белков межклеточных контактов, участвующих в регуляции многих физиологических процессов, они способны регулировать чувствительность опухолевых клеток к химиопрепаратам. В гастроинтестинальных стромальных опухолях (ГИСО) гиперэкспрессия отдельных белков данного семейства коррелирует с плохим прогнозом заболевания. В настоящем исследовании была изучена роль клаудина 1 в регуляции чувствительности клеток ГИСО к таргетному препарату иматинибу мезилату (ИМ).

**Цель исследования** — изучение роли клаудина 1 в формировании резистентности ГИСО к ИМ.

**Материалы и методы.** Исследования проводились на клеточных линиях ГИСО, чувствительных и резистентных к ИМ (ГИСО T-1 и ГИСО T-1R). Уровни экспрессии белков межклеточных контактов (ZO-1, ZO-2, клаудин 1) оценивали методом иммуноблоттинга. Нокдаун гена *CLDN1* осуществляли при помощи коротких интерферирующих РНК. Расчет полумаксимальных ингибирующих концентраций (IC50) ИМ осуществляли методом колориметрического MTS-теста. Жизнеспособность клеток оценивали методом окрашивания красителем кристаллическим фиолетовым, а также определяли по изменению уровней экспрессии маркеров апоптоза (расщепленные формы поли(АДФ-рибоза)-полимеразы и каспазы 3). Оценку пролиферативной активности осуществляли с использованием системы iCELLigence.

**Результаты.** Было обнаружено, что в ИМ-резистентных ГИСО экспрессия белков межклеточных контактов (в первую очередь, клаудина 1) была суще-

ственно выше по сравнению с ИМ-чувствительными клетками. Нокдаун гена *CLDN1* в ИМ-резистентных ГИСО приводил к повышению их чувствительности, что проявлялось как снижением значений IC50, так и снижением скорости их пролиферации в присутствии ИМ. Кроме того, было отмечено повышение уровней экспрессии маркеров апоптоза в ИМ-резистентных ГИСО, культивируемых в присутствии ИМ при условии «выключения» клаудина 1 с помощью соответствующих коротких интерферирующих РНК. Окрашивание клеточных культур ГИСО кристаллическим фиолетовым также показало снижение жизнеспособности ГИСО в присутствии ИМ в условиях нокдауна гена *CLDN1*.

**Заключение.** Высокий уровень экспрессии клаудина 1 в ИМ-резистентных клетках ГИСО модулирует их чувствительность к ИМ и может являться альтернативным фактором, обуславливающим формирование вторичной резистентности ГИСО к ИМ в условиях отсутствия вторичных мутаций гена *KIT*.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 24-25-00418).*

## Цитотоксичность гидрокарбоната натрия и его влияние на митохондрии и лизосомы злокачественных клеток

А.А. Богданов, Л.С. Ляпунова, А.А. Богданов

ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический) им. Н.П. Напалкова»,

Санкт-Петербург

e-mail: a.bogdanov@oncocentre.ru

**Введение.** Ощелачивание микроокружения опухоли является перспективным направлением в терапии злокачественных новообразований, однако механизмы этого метода остаются недостаточно изученными.

**Цель исследования** — изучение влияния гидрокарбоната натрия на митохондрии и лизосомы как злокачественных, так и нормальных клеток. Исследование направлено на понимание механизмов клеточной смерти при алкализации межклеточной среды.

**Материалы и методы.** В работе использовались следующие клеточные линии: аденокарцинома толстой кишки мыши (СТ26), первичная меланома, иммортализованные кератиноциты человека (HaCaT). Клетки рассеивали в концентрации 50 000–150 000 шт. на лунку в 24-луночные планшеты и инкубировали при 37 °C с 5 % CO<sub>2</sub> за 48 ч до начала эксперимента. Для культивирования применяли культуральные среды RPMI-1640 (СТ26), DMEM F12 (меланома, HaCaT). После замены среды на свежую с содержанием гидрокарбоната натрия (25–120 мМ, pH ~7,4–8,1) клетки инкубировали в течение 4, 24 и 48 ч. Затем их снимали с лунок и окрашивали красителями LumiTracker Lyso Green (лизосомы), LumiTracker Mito Red CMX Ros (митохондрии).



Регистрацию результатов проводили на проточном цитометре.

**Результаты.** Исследование показало, что алкализация среды приводит к снижению пролиферации всех клеточных линий с наиболее выраженным эффектом для первичной линии меланомы и клеток СТ26. Установлена обратная зависимость между количеством выживших клеток и концентрацией гидрокарбоната натрия, а также временем инкубации.

Для всех типов клеток наблюдалось увеличение интенсивности флюоресценции красителей Mito Red и Lyso Green с ростом концентрации гидрокарбоната натрия и продолжительностью инкубации. Клетки HaCaT не показали значимых изменений в интенсивности флюоресценции Mito Red и Lyso Green.

**Заключение.** Результаты исследования показывают, что алкализация гидрокарбонатом натрия обладает явно выраженным цитотоксическим действием на злокачественные клеточные линии, приводя к увеличению количества лизосомальных структур, что может свидетельствовать об инициации аутофагии. При этом с ростом концентрации гидрокарбоната натрия в среде повышается активность митохондрий.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 24-15-00297).*

## Профиль микроРНК костного мозга как индикатор опухолевой прогрессии злокачественных лимфопролиферативных неоплазий

Ю.А. Верякина<sup>1</sup>, С.Е. Титов<sup>1,2</sup>, О.В. Березина<sup>3</sup>,  
И.Б. Ковынев<sup>3</sup>, Н.В. Скворцова<sup>3</sup>, С.С. Федорова<sup>3</sup>,  
Т.И. Поспелова<sup>3</sup>, И.Ф. Жимулев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН», Новосибирск;

<sup>2</sup>АО «Вектор-Бест», Новосибирск;

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

**Введение.** Хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) — наиболее распространенная форма лейкоза у взрослых с весьма варибельным клиническим течением. Недавние исследования показали, что клиническое течение и исход заболевания зависят не только от генетических, но и эпигенетических факторов. Аберрантная экспрессия микроРНК — один из механизмов возникновения и опухолевой прогрессии злокачественных лимфоидных неоплазий.

**Цель исследования** — выявление профиля экспрессии микроРНК при ХЛЛ в костном мозге (КМ) и лимфатических узлах.

**Материалы и методы.** В исследование вошли:

1. Образцы, полученные путем стерильной пункции и аспирационной биопсии КМ ( $n = 115$ ). Они

включают 49 случаев бессимптомного ХЛЛ на ранней стадии без показаний к терапии и 66 случаев прогрессирующего ХЛЛ с показанием к терапии (ХЛЛ с анемией ( $n = 21$ ) и без нее ( $n = 45$ )).

2. Гистологические препараты биопсированных опухолевых лимфатических узлов до начала лечения, прошедших обработку с использованием классических методов фиксации в формалине ( $n = 20$ ).

Контрольные группы составили пациенты с реактивной лимфаденопатией ( $n = 37$ ) и неопухолевыми патологиями крови ( $n = 35$ ). Выделение нуклеиновых кислот из клинических образцов проводилось с использованием набора реагентов «Реал Бест экстракция 100» («АО Вектор-Бест», Россия). Уровни экспрессии микроРНК измеряли с помощью обратной транскрипции ПЦР-РВ. Статистический анализ был выполнен с использованием U-критерия Манна–Уитни.

**Результаты.** Мы продемонстрировали значительное повышение уровней экспрессии микроРНК-34a и микроРНК-150 в образцах КМ ( $p < 0,05$ ) и снижение уровня экспрессии микроРНК-451a в образцах лимфатических узлов ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольными группами. Различия в профилях экспрессии микроРНК в КМ и лимфатических узлах могут служить признаком аномалий миелоидных клеток в КМ, потенциально способствующих развитию анемии, которая является распространенным клиническим признаком неблагоприятного прогноза у больных ХЛЛ. Мы отметили динамическое повышение уровней экспрессии микроРНК-150 и микроРНК-34a в КМ на различных стадиях прогрессирования ХЛЛ.

**Заключение.** Мы пришли к выводу, что динамическая картина клинических проявлений ХЛЛ тесно коррелирует с изменениями эпигенетических характеристик опухоли. Прогрессирование лимфопролиферативного процесса и показания к циторедуктивной терапии связаны с изменениями в профиле микроРНК, генерируемом раковыми клетками.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 20-14-00074-П).*

## Роль энтоза в росте и прогрессии опухоли

К.А. Гаптулбарова<sup>1,2</sup>, С.В. Вторушин<sup>1-3</sup>, Н.В. Литвяков<sup>1-3</sup>

<sup>1</sup>НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск;

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

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск  
e-mail: xenia.gaptulbarova@yandex.ru

**Введение.** Энтоз является процессом активного проникновения живых и жизнеспособных клеток в соседние клетки того же типа с вовлечением молекул

адгезии и последующим формированием структур «клетка в клетке». Одним из триггеров энтоза между опухолевыми клетками служит ХТ. Мы предполагаем, что под действием химиопрепаратов за счет механизма энтоза и слияния клеток может наблюдаться также слияние генетического материала интернализированной и поглощающих клеток и возникновение анеуплоидии, в частности, появление амплификаций генов стволовости, драматически влияющих на риск метастазирования.

**Материалы и методы.** В исследование включены 96 пациентов с КРР, 45 пациентов с РЛ, 76 пациентов с РМЖ, имеющих операционный либо биопсийный материал.

Для изучения CNA использована микроматрица высокой плотности CytoScan HD Array (Affymetrix, США). Проводилось гистологическое исследование на предмет наличия и частоты энтоза в срезах. Частота встречаемости сравнивалась с количеством амплификаций генов стволовости, основными клиничко-морфологическими параметрами больных (стадия, размер опухоли, степень дифференцировки, Grade). Статистическая обработка данных проведена с использованием пакетов прикладных программ Statistica 8 (StatSoft Inc., США).

**Результаты.** В каждой группе была определена связь частоты энтоза с основными клиничко-морфологическими параметрами (размер опухоли, лимфогенное метастазирование, степень дифференцировки и т. д.). В результате анализа было установлено, что частота энтозических событий практически не связана с клиничко-морфологическими параметрами.

Для больных КРР и РМЖ не выявлено статистически значимых результатов в отношении связи структур «клетка в клетке» с клиничко-морфологическими параметрами. Была получена статистически значимая зависимость для больных РМЖ. Так, лимфогенное и отдаленное метастазирование чаще наблюдались у людей с высокой частотой образования «клетка в клетке» с уровнями значимости  $p = 0,01$  и  $p = 0,03$  соответственно. Корреляционный анализ 49 больных КРР показал зависимость количества амплификаций генов стволовости от частоты образованных структур «клетка в клетке». Чем больше подобных структур было обнаружено в ткани, тем больше было амплификаций генов стволовости и выше коэффициент корреляции Спирмена 0,47 ( $p = 0,0006$ ), что связано со способностью опухолевых клеток к метастазированию.

**Заключение.** На данный момент установлена прямая корреляционная связь (коэффициент корреляции Спирмена 0,47 ( $p = 0,0006$ )) частоты энтоза с количеством амплификаций генов стволовости у больных КРР, которые определяют способность опухолевых клеток к метастазированию и прогностическую значимость у больных РЛ.

Исследование энтоза будет продолжено, так как оно может дать ключ к пониманию механизма бы-

строго развития анеуплоидных субпопуляций опухолевых клеток в процессе ХТ и прогрессирования опухолей.

## Выявление ключевых генов и построение регуляторных сетей микроРНК–мРНК, ассоциированных со злокачественной трансформацией глиом, методом интегративного биоинформатического анализа

И. Ф. Гареев<sup>1</sup>, С. А. Румянцев<sup>2</sup>, В. П. Чехонин<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н. И. Пирогова»

Минздрава России, Москва

e-mail: ilgiz\_gareev@mail.ru

**Введение.** Злокачественная трансформация глиом низкой степени злокачественности (ГНСЗ) является критическим событием, влияющим на выживаемость пациентов.

**Цель исследования** — идентификация дифференциально экспрессируемых генов между ГНСЗ и глиомами высокой степени злокачественности (ГВСЗ) с последующим построением регуляторной сети микроРНК–мРНК для изучения механизмов злокачественной трансформации.

**Материалы и методы.** Были загружены наборы данных микрочипов GSE30472 и GSE45921 из базы данных GEO. Для последующих анализов были отобраны 24 образца ГНСЗ и 53 — ГВСЗ. После объединения всех данных микрочипов были идентифицированы дифференциально экспрессируемые гены. После серии анализов, включая обогащение путей GO и KEGG, данные белок-белковых взаимодействий и анализ ключевых моделей дифференциально экспрессируемых генов с биологическими фенотипами, были отобраны и идентифицированы потенциальные ключевые гены. Потенциальные сети микроРНК–мРНК были впоследствии сконструированы с помощью баз данных miRWalk 3.0, TargetScan и miRDB. Различия между группами анализировались с помощью критерия Вилкоксона,  $p < 0,05$ .

**Результаты.** В общей сложности 18 дифференциально экспрессируемых генов или мРНК были значительно дифференциально экспрессированы с кратностью изменения ( $\log_2FC$ ) = 1,0 ( $p < 0,05$ ) в образцах ГВСЗ по сравнению с ГНСЗ. В наших результатах 11 генов-концентраторов — *BABAM1*, *BIRC5*, *CIQBP*, *CALU*, *DAXX*, *DAZAP1*, *DBF4*, *DCTPP1*, *DEPDC1*, *AAK1* и *C19orf47* — продемонстрировали значительную экспрессию ( $\log_2FC > 1,0$ ; среднее значение составило 14,2;  $p < 0,05$ ) в образцах ГВСЗ по сравнению с образцами ГНСЗ. В конечном итоге были идентифицированы 6 регуляторных путей: *hsa-let-7d-5p-CALU*, *hsa-let-7d-5p-AAK1*, *hsa-let-7e-5p-CALU*, *hsa-let-7e-5p-AAK1*, *hsa-miR-3666-DEPDC1*

и hsa-miR-3666-AAK1, которые регулируют механизм злокачественной трансформации ГНСЗ.

**Заключение.** Наше исследование идентифицировало новые гены-концентраторы и связанные с ними микроРНК, которые потенциально участвуют в онкогенезе глиом, что впоследствии может помочь раскрыть механизмы, лежащие в основе злокачественной трансформации ГНСЗ.

## Алармины в рецидиве опухоли

И.В. Гужова

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

**Введение.** Рак коварен, и часто после, казалось бы, успешного лечения происходит рецидив или обнаруживаются метастазы. Какие молекулярные механизмы вовлечены в эти процессы, что позволяет опухолевым клеткам пережить ХТ или радиотерапию и возродить опухолевую популяцию через недели или годы? Данное исследование посвящено попытке ответить на эти вопросы.

**Материалы и методы.** В работе использованы методы клеточной и молекулярной биологии, иммунохимии и биоинформатики. Часть исследований была проведена с участием лабораторных животных. Все эксперименты на животных были одобрены этическим комитетом Института цитологии РАН № F18–00380.

**Результаты.** Опухолевые клетки в неблагоприятных условиях недостатка питательных веществ, отсутствия кислорода или токсического действия химиопрепаратов впадают в состояние дормантности, сопровождающееся активацией аутофагии, и становятся невосприимчивыми к новым циклам ХТ. Более того, они начинают демонстрировать маркеры стволовости и ЭМП. Гибель основной части популяции опухоли во время ХТ приводит к высвобождению во внеклеточное пространство белков-аларминов, которые помимо влияния на иммунную систему пациента могут воздействовать на поведение самих опухолевых клеток. Мы показали, что алармины, шаперон Hsp70 и ядерный белок HMGB1 могут формировать белковые комплексы, которые стимулируют репопуляцию рассеянной микропопуляции опухолевых клеток.

**Заключение.** На основании полученных данных мы предполагаем, что для предотвращения репопуляции опухолевых дормантных клеток следует сосредоточиться на модуляторах белков — участников механизма аутофагии, способных перевести опухолевую клетку из состояния аутофагии в апоптоз, и на малых молекулах — разобщителях белковых комплексов, вносящих вклад в регуляцию репопуляции.

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

## Регуляция подвижности клеток молочной железы, несущих онкогенные мутации гена *PIK3CA*, с помощью ингибитора малой ГТФазы RhoA

Али Даюб<sup>1,2</sup>, А.И. Фокин<sup>2</sup>, М.Е. Ломакина<sup>1,2</sup>, А.М. Готро<sup>2</sup>,  
А.Ю. Александрова<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Политехническая школа, Париж, Франция  
e-mail: ali7r7dayoub@gmail.com

**Введение.** По данным литературы, до 40 % опухолей молочной железы несут мутации гена *PIK3CA*, наиболее частыми из которых являются *H1047R* и *E545K*. Показано, что они приводят к увеличению метастазирования (в экспериментах *in vivo*) и проявлению гибридного ЭМП, увеличению активности ERK, активации малой ГТФазы RhoA и PMLC2 (в экспериментах *in vitro*). Это приводит к изменению миграционной активности клеток молочной железы. С повышением метастазирования часто ассоциирована активация RhoA, поэтому в литературе рассматривают подавление этого белка в качестве противоопухолевого подхода, останавливающего метастазирование. Для этого необходимо исследование молекулярных путей, регулирующих подвижность клеток.

**Цель исследования** — изучение молекулярных путей, регулирующих миграцию клеток молочной железы под влиянием мутаций гена *PIK3CA*.

**Материалы и методы.** Миграцию клеток исследовали с помощью видеомикроскопии. ЭМП и активацию сигнальных путей оценивали с помощью иммуноблоттинга, активацию ERK при миграции — с помощью сенсора ERK-KTR с применением программы Particle Image Velocimetry. Клеточные структуры исследовали с помощью конфокальной микроскопии.

**Результаты.** Мутации *H1047R* и *E545K* вызывали ЭМП в клетках MCF10A; этот процесс выражен сильнее при мутации *H1047R*.

Мутации *PIK3CA* сопровождаются увеличением активности ERK. Регуляторный путь ERK, но не PI3K/AKT, играет важнейшую роль в увеличении миграции, вызванной этими мутациями.

Мутация гена *H1047R* привела к волнообразному изменению активности ERK и накоплению актомиозиновых структур в задней части мигрирующих клеток, образуя анизотропную сократимость, приводящую к усилению миграции. Мутация гена *E545K* вызывала постоянную активность ERK и увеличение изотропной сократимости клеток, которая не поддерживала эффективную миграцию.

Ингибирование RhoA с помощью Y27632 привело к противоположным результатам в случае 2 разных мутаций гена *PIK3CA* — при *H1047R* происходило уменьшение скорости миграции, а при *E545K* она активировалась.



Для эффективной миграции клеток недостаточно увеличения активности ERK, сопровождающегося повышением активности малой ГТФазы RhoA, необходимы колебания активности ERK, позволяющие несколько снизить механистическое напряжение в мигрирующем слое клеток.

**Заключение.** Результаты исследования показали, что при выборе ингибиторов с целью снижения метастазирования важно учитывать не только изменение активности ERK и RhoA, но и наличие конкретных мутаций гена *PIK3CA*.

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

### Формирование структур «клетка в клетке» в ответ на химиотерапевтическое воздействие и развитие резистентности *in vitro* и *in vivo*

И.Н. Дружкова<sup>1</sup>, А.Л. Потапов<sup>1</sup>, Н.И. Игнатова<sup>1</sup>,  
М.Л. Бугрова<sup>1</sup>, И.Д. Щечкин<sup>1</sup>, М.М. Лукина<sup>2</sup>,  
Л.Е. Шимолина<sup>1</sup>, М.В. Ширманова<sup>1</sup>, Е.В. Загайнова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Нижний Новгород;

<sup>2</sup>ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский и клинический центр физико-химической медицины им. А.Н. Лопухина ФМБА», Москва  
e-mail: danirin@yandex.ru

**Цель исследования** — установить корреляцию формирования структур «клетка в клетке» с резистентностью клеток КРР человека к химиотерапевтическим препаратам.

#### Материалы и методы:

- клеточные линии КРР человека (CaCo-2, HT29, HCT116, SW837, SW480 и резистентные к оксалиплатину линии HCT116 и HT29);
- МТТ-тест;
- иммуногистохимический и иммуноцитохимический анализ;
- трансмиссивная электронная микроскопия;
- лазерная конфокальная микроскопия;
- ПЦР, цитогенетический анализ.

**Результаты.** Морфологический анализ клеточных культур КРР выявил их спонтанную способность к формированию так называемых структур «клетка в клетке». Анализ динамики образования «клетка в клетке» показал наибольшую активность у линии CaCo-2 (18 %). Они же характеризовались наибольшей лекарственной устойчивостью *in vitro* к оксалиплатину и иринотекану и наиболее активным формированием данных структур при воздействии препаратов. Присутствие одной живой клетки внутри другой было подтверждено с помощью электронной микроскопии и конфокальной микроско-

пии с витальными красителями с получением серии изображений по глубине сканирования. При развитии резистентности к оксалиплатину наблюдалось увеличение числа структур «клетка в клетке» в клеточных линиях, в том числе с исходно низким количеством первоначальных структур. Анализ числа хромосом в линиях, устойчивых к оксалиплатину, выявил высокий уровень геномной нестабильности. Изменения числа хромосом в линиях HCT116 и HT29 носили разнонаправленный характер, что, вероятно, ассоциировано с мутацией в гене *TP53* в линии HT29. Кроме того, резистентные линии характеризовались развитием сенесцентно-подобного фенотипа согласно анализу экспрессии специфических маркеров, таких как p21, и окрашиванию на β-галактозидазу.

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о том, что ответ на лекарственную терапию и формирование лекарственной устойчивости ассоциированы с образованием морфологических структур «клетка в клетке». Также приобретенная резистентность ассоциирована с развитием сенесцентно-подобного состояния опухолевых клеток. Дальнейшее изучение механизмов их формирования открывает возможности для повышения эффективности лекарственной терапии новообразований.

*Работа выполнена в рамках государственного задания Минздрава РФ «Морфологические структуры «клетка в клетке» как прогностический критерий прогрессирования онкологических заболеваний».*

### Экспрессия генов сфинголипидного метаболизма при раке молочной железы у беременных

Т.М. Заварыкина<sup>1,2</sup>, М.А. Капралова<sup>1</sup>, В.Е. Блохин<sup>3</sup>,  
У.А. Гутнер<sup>1</sup>, М.А. Шупик<sup>1</sup>, Е.В. Козырко<sup>2</sup>, Е.А. Лужина<sup>2</sup>,  
Д.А. Байгазиева<sup>2</sup>, С.В. Хохлова<sup>2</sup>, А.В. Алесенко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН», Москва;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва;

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН», Москва  
e-mail: tpalievskaya@yandex.ru

**Введение.** Наиболее распространенным видом солидных опухолей, развивающихся во время беременности, является РМЖ. Сфинголипиды представляют собой важную составляющую канцерогенеза, участвуя в регуляции апоптоза и деления клеток.

**Цель исследования** — определение роли генов метаболизма сфинголипидов в плаценте беременных женщин с РМЖ на фоне беременности по сравнению со здоровыми пациентками, а также влияния этих генов на акушерские параметры.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 7 пациенток с РМЖ на фоне беременности, получавших цитостатическую ХТ, и 8 здоровых беременных. Методом ПЦР была определена относительная экспрессия 15 генов метаболизма сфинголипидов, ферменты которых контролируют синтез церамидов, сфингозинов и S1P в образцах плаценты. Расчеты проводились с использованием метода Манна–Уитни, логистической регрессии и корреляции Спирмена.

**Результаты.** Выявлено повышение экспрессии генов *SGPL1* ( $p = 0,04$ ), *SPHK1* ( $p = 0,009$ ), *CERS1* ( $p = 0,001$ ), *CERS2* ( $p = 0,004$ ), *CERS3* ( $p = 0,001$ ), *CERS5* ( $p = 0,002$ ), *CERS6* ( $p = 0,006$ ) в образцах плаценты пациенток с РМЖ. Отмечена тенденция к увеличению экспрессии гена *ASAN* ( $p = 0,09$ ). Анализ генов S1P-рецепторов выявил увеличение экспрессии *S1PR1* ( $p = 0,01$ ), *S1PR2* ( $p = 0,04$ ), *S1PR3* ( $p = 0,002$ ) в плаценте беременных пациенток с РМЖ после ХТ. Выявлена связь экспрессии генов *CERS2* и *CERS5* с процентилем плаценты ( $p = 0,002$  и  $p = 0,003$  соответственно) и массой плаценты ( $p = 0,014$  и  $p = 0,05$ ) у беременных с РМЖ.

**Заключение.** Выявлены значительные изменения в экспрессии генов, контролирующих уровень церамидов, сфингозина и S1P, у беременных с РМЖ, что может указывать на их перспективность в качестве потенциальных кандидатов как для диагностики, так и для терапии РМЖ у беременных.

## Экспрессия генов *ABCB1*, *GSTP1* и *GSTT1* у беременных с онкологическими заболеваниями

Т.М. Заварыкина<sup>1,2</sup>, М.А. Капралова<sup>1</sup>, Е.В. Козырко<sup>2</sup>,  
Е.А. Лузина<sup>2</sup>, Д.А. Байгазиева<sup>2</sup>, С.В. Хохлова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт биохимической физики  
им. Н.М. Эмануэля РАН», Москва;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии  
им. В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва  
e-mail: tpalievskaya@yandex.ru

**Введение.** Онкологические заболевания на фоне беременности — один из наиболее слабо освещенных вопросов в онкологии, терапевтическая тактика для таких пациенток остается дискуссионной. В зависимости от вида рака применяются различные схемы лечения, чаще всего пациентки получают цитостатическую ХТ. С транспортом лекарственных веществ, применяющихся в лечении таких заболеваний, тесно связаны транспортные белки, отвечающие за их перенос через плазматическую мембрану клетки. Ген *ABCB1* кодирует Р-гликопротеин, который является наиболее представленным белком-транспортером в плаценте. Гены глутатионтрансфераз *GSTP1* и *GSTT1* кодируют ключевые ферменты системы биотрансформации ксенобиотиков на этапе детоксикации, которые метаболизируют широкий спектр токсинов и лекарственных препаратов.

**Цель исследования** — определение роли генов *ABCB1*, *GSTP1* и *GSTT1*, отвечающих за транспорт и метаболизм токсинов и лекарственных препаратов, в плаценте беременных женщин с РМЖ, РШМ и РЯ, развившихся на фоне беременности, после ХТ по сравнению со здоровыми пациентками.

**Материалы и методы.** В ходе исследования были изучены образцы ткани плаценты 31 пациентки с онкологическими заболеваниями (РМЖ, РШМ, РЯ) и 10 здоровых беременных в качестве контроля. Методом ПЦР была определена относительная экспрессия генов *ABCB1*, *GSTP1* и *GSTT1*.

**Результаты.** В общей группе больных и подгруппе с РШМ выявлено повышение экспрессии гена *GSTT1* (общая группа:  $p = 0,022$ ; РШМ:  $p = 0,027$ ) и снижение экспрессии гена *GSTP1* (общая группа:  $p = 0,033$ ; РШМ:  $p = 0,011$ ). В подгруппе больных с РМЖ изменение экспрессии выявлено только для гена *GSTT1* ( $p = 0,05$ ). Эта же зависимость наблюдалась в плаценте женщин с РМЖ и РШМ для гена *GSTT1* — повышение экспрессии по сравнению со здоровыми беременными ( $p = 0,024$ ).

**Заключение.** Выявлено изменение экспрессии генов *GSTT1*, *GSTP1* у больных с рядом онкологических заболеваний на фоне беременности. Исследование молекулярно-генетических особенностей беременных пациенток с онкологическими заболеваниями может определить новые мишени терапии, прогностические маркеры акушерских осложнений лечения РМЖ у беременных пациенток, возможности для оценки эффективности ХТ.

## Роль мутаций сигнального пути Ras/Raf/Mek в развитии синдромов эпидермального невуса

Е.Е. Зеленова<sup>1,2</sup>, Т.С. Бельшева<sup>1</sup>, В.В. Семенова<sup>1,2</sup>,  
Е.В. Шарапова<sup>1</sup>, Т.В. Наседкина<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБУ «Институт молекулярной биологии  
им. В.А. Энгельгардта РАН», Москва  
e-mail: zelenovayeye@gmail.com

**Введение.** Синдромы эпидермального невуса — группа орфанных заболеваний, ассоциированных с постзиготическими мутациями в ряде генов, включая Ras/Raf/Mek-сигнальный путь и проявляющихся развитием невуса в раннем детском возрасте в сочетании с патологией других органов и систем. При этом мутации в генах каскада Ras/Raf/Mek могут наблюдаться как при синдроме Шиммельпеннинга–Фейрштейна–Мимса (СШФМ), так и в случае пигментно-кератотического факоматоза.

**Цель исследования** — определить роль мутаций генов Ras/Raf/Mek сигнального пути в развитии синдрома эпидермального невуса на примере СШФМ и пигментно-кератотического факоматоза.

**Материалы и методы.** Были проанализированы данные 7 пациентов с СШФМ и 2 — с пигментно-кератотическим факоматозом в российской популяции, у которых было выполнено молекулярно-генетическое исследование методом высокопроизводительного секвенирования ДНК лимфоцитов крови, биоптатов невисов и опухолей на платформе NextSeq 2000 Illumina с использованием панели 415 генов, а также осуществлена верификация методом секвенирования по Сэнгеру.

**Результаты.** Общая выборка составила 9 пациентов, из них мутации в генах *KRAS* (с.35G>A), *HRAS* (с.37G>C и с.182A>G), *NRAS* (с.182A>G) и *BRAF* (с.1406G>C) выявлены у 4, 4, 1 и 1 пациента соответственно. Только дети с *KRAS*-mut имели патологию органов зрения. Патология сердечно-сосудистой системы встречалась у всех *KRAS*-mut пациентов, в то время как лишь 1 *HRAS*-mut и 1 *BRAF*-mut пациенты имели легкие аномалии (открытое овальное окно). Гипофосфатемический рахит отмечен у всех *HRAS*-mut пациентов, у 1 *NRAS*-mut пациента и лишь у 1/3 детей с мутацией в гене *KRAS*. Органическое поражение головного мозга наблюдалось у 2/3 *KRAS*-mut пациентов и 1 ребенка с *BRAF*-mut. При этом задержка психомоторного развития отмечена у всех пациентов, кроме 1 девочки с *HRAS*-mut. Злокачественные новообразования не являются типичным проявлением данных синдромов, однако у 2 пациентов с мутацией с.37G>C в гене *HRAS* были выявлены рабдомиосаркома и эктомеzenхиома паховой области, у 1 девочки с мутацией с.35G>A в гене *KRAS* выявлен нефробластоматоз. Примечательно, что именно в данных тканях была определена максимальная доля мутантного аллеля.

**Заключение.** Выявлены 2 четкие клинко-генетические группы пациентов с СШФМ (*HRAS*-mut и *KRAS*-mut). Фенотипические особенности пациентов с СШФМ и пигментно-кератотическим факоматозом определяются не только геном, но и типом мутации, а также долей мутантного аллеля, что может быть использовано для объяснения механизмов развития синдромов. Полученные данные позволяют скорректировать дальнейшее лечение и динамическое наблюдение пациентов.

## Особенности экспрессии PD-L1 (PDCD1LG1) в перитуморальной строме и ее связь с клинко-морфологическими характеристиками рака молочной железы

Е.Ю. Зубарева<sup>1,2</sup>, М.А. Сеньчукова<sup>1,2</sup>, Н.В. Сайдлер<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГАОУ «Оренбургский областной клинический онкологический диспансер», Оренбург;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России, Оренбург  
e-mail: tishkova\_evgeniy@mail.ru

**Введение.** Связь экспрессии PD-L1 (PDCD1LG1) в клетках перитуморальной стромы с клинко-морфологическими характеристиками РМЖ изучена недостаточно, что и послужило причиной написания данной работы.

**Цель исследования** — изучить связь экспрессии PD-L1 (PDCD1LG1) с клинко-морфологическими характеристиками РМЖ.

**Материалы и методы.** В исследование включены 148 пациенток с впервые выявленным РМЖ стадии Tis–2N0–3M0. Экспрессию PD-L1 изучали ИГХ-методом с использованием моноклонального антитела к PD-L1 (PDCD1LG1). В образцах оценивали следующие характеристики перитуморальной стромы опухоли: относительную плотность (ОП) PDCD1LG1 позитивных иммунных клеток (ИК) (PDCD1LG1+ ИК) в 5 полях зрения при  $\times 800$  как произведение среднего балла ОП ИК на средний балл доли PDCD1LG1+ ИК (диапазон баллов 0–12); выраженность полиморфоноклеточной инфильтрации с экспрессией маркера в 3 полях зрения при  $\times 400$  в баллах: 0 — отсутствие полиморфоноклеточной инфильтрации, 1 — слабовыраженная (занимает до 10 % площади стромы опухоли), 2 — умеренная (10–30 %), 3 — выраженная (>30 %); наличие или отсутствие фибробластической стромы с экспрессией PDCD1LG1 в 3 полях зрения при  $\times 400$ .

**Результаты.** ОП PDCD1LG1+ ИК была достоверно выше при G2 и G3 ( $3,3 \pm 2,6$ ;  $5,4 \pm 3,3$  и  $4,9 \pm 2,9$  соответственно при G1, G2 и G3;  $p = 0,04$ ), при отсутствии периневральной инвазии ( $5,2 \pm 3,3$  и  $3,7 \pm 2,3$  соответственно при отсутствии и наличии;  $p = 0,025$ ), наличии экспрессии рецепторов к прогестерону ( $3,8 \pm 3,0$  и  $5,3 \pm 3,1$  соответственно при отсутствии и наличии;  $p = 0,02$ ). Выраженная полиморфоноклеточная инфильтрация встречалась в 0, 9 и 27 % случаев соответственно при G1, G2 и G3 ( $p = 0,008$ ); в 38 и 10 % случаев соответственно при отсутствии и наличии рецепторов к эстрогенам ( $p = 0,002$ ); в 4, 9, 12 и 61 % случаев соответственно при HER2–, HER2+, HER2++ и HER2+++ ( $p = 0,00001$ ) и в 11, 0, 70, 60 и 0 % случаев соответственно при люминальном А, люминальном В HER2–, люминальном В HER2+, HER2+ и тройном негативном РМЖ ( $p = 0,00001$ ). Фибробластическая

строма встречалась в 0, 45, 14 и 14 % случаев соответственно при Tis, T1b, T1c и T2 ( $p = 0,026$ ); в 50 и 25 % случаев соответственно при эстрогенах– и эстрогенах+ ( $p = 0,03$ ); в 25, 18, 25 и 56 % случаев соответственно при HER2–, HER2+, HER2++ и HER2+++ ( $p = 0,04$ ); в 79, 79, 30, 50 и 50 % случаев соответственно при люминальном А, люминальном В HER2–, люминальном В HER2+, HER2+ и тройном негативном РМЖ ( $p = 0,004$ ).

**Заключение.** Учитывая, что экспрессия PDCD1LG1 в различных клетках перитуморальной стромы коррелировала с ключевыми факторами прогноза РМЖ, дальнейшее ее изучение представляет несомненный интерес.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 23-25-00183).*

## Экспрессия PD-L1 (PDCD1LG1) в иммунных клетках стромы и ее связь с регионарным метастазированием при раке молочной железы

Е.Ю. Зубарева<sup>1,2</sup>, М.А. Сеньчукова<sup>1,2</sup>, Н.В. Сайдлер<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГБУЗ «Оренбургский областной клинический онкологический диспансер», Оренбург;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России, Оренбург  
e-mail: tishkova\_evgeniy@mail.ru

**Введение.** Согласно данным литературы, одним из маркеров, связанных с метастазированием РМЖ в регионарные лимфатические узлы, может являться экспрессия PDCD1LG1 в ИК стромы.

**Цель исследования** — изучить связь экспрессии PDCD1LG1 в ИК стромы с риском метастазирования РМЖ в региональные лимфатические узлы.

**Материалы и методы.** В исследование включены 148 пациенток с впервые выявленным РМЖ стадии Tis–2N0–3M0. Экспрессию PD-L1 изучали ИГХ-методом с использованием моноклонального антитела к PD-L1 (PDCD1LG1). В 5 полях зрения при  $\times 800$  оценивали ОП PDCD1LG1 позитивных ИК (PDCD1LG1+ ИК) как произведение среднего балла ОП ИК на средний балл доли PDCD1LG1+ ИК (диапазон баллов 0–12). Для анализа образцы были разделены на 2 группы в соответствии с 35-й перцентилью: с низкой (<3), средней и высокой (3 и выше) ОП PDCD1LG1+ ИК.

**Результаты.** С наличием метастазов в региональных лимфатических узлах коррелировали лимфоваскулярная инвазия (ЛВИ), перинеуральная инвазия, HER2-статус, статус рецепторов к эстрогенам и ОП PDCD1LG1+ ИК. Наиболее сильные корреляции отмечены для ЛВИ ( $\gamma = 0,967$ ;  $p < 0,00000$ ). Средняя и высокая ОП PDCD1LG1+ ИК с высокой частотой встречались как при N0 (80,3 %), так и при N3 (100 %). В связи с этим мы выделили 4 группы в зависимости от ОП PDCD1LG1+

ИК и ЛВИ: низкая ОП PDCD1LG1+ ИК/ЛВИ–; средняя и высокая ОП PDCD1LG1+ ИК/ЛВИ–; низкая ОП PDCD1LG1+ ИК/ЛВИ+ и средняя и высокая ОП PDCD1LG1+ ИК/ЛВИ+. В однофакторном анализе с метастазами в региональных лимфатических узлах связаны наличие ЛВИ, перинеуральной инвазии, отсутствие экспрессии эстрогенов и комбинированный показатель (ОП PDCD1LG1+ ИК + ЛВИ). В многофакторном анализе независимыми предикторами высокого риска метастазов в региональных лимфатических узлах были низкая ОП PDCD1LG1+ ИК/ЛВИ+ (отношение шансов 11,09, 95 % ДИ 2,31–53,15;  $p = 0,003$ ) и средняя и высокая ОП PDCD1LG1+ ИК/ЛВИ+ (отношение шансов 44,35, 95 % ДИ 7,35–267,5;  $p = 0,00001$ ). Средняя и высокая ОП PDCD1LG1+ ИК/ЛВИ были независимыми предикторами низкого риска метастазирования в региональные лимфатические узлы (отношение шансов 0,11, 95 % ДИ 0,02–0,46;  $p = 0,003$ ). Полагаем, что при начальных стадиях РМЖ средняя и высокая ОП PDCD1LG1+ ИК связана с благоприятными факторами прогноза, снижая риск регионарного метастазирования, тогда как при местно-распространенном РМЖ, напротив, может способствовать метастазированию, увеличивая его риск.

**Заключение.** Полагаем, что необходимы дальнейшие исследования для уточнения роли экспрессии PDCD1LG1+ ИК в регионарном метастазировании РМЖ.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 23-25-00183).*

## Штамм-зависимое влияние метаболитов E. coli на клетки колоректального рака

Н.И. Игнатова, М.И. Пряжников, И.Н. Дружкова,  
А.Н. Селиверстов, М.В. Ширманова

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

**Введение.** Одним из постоянных факторов, влияющих на активность клеток КРР, являются метаболиты бактерий, непосредственно находящихся в кишечном содержимом. Известно, что некоторые из них могут провоцировать канцерогенез, когда их содержание превышает нормальные показатели или они полностью вытесняют нормобиоту данной области. Продуцируя токсичные метаболиты и приводя к геномным повреждениям клеток кишечника, они также меняют их метаболизм и способность к миграции. КРР занимает 3-е место в мире по заболеваемости, и возможность его коррекции и лечения является актуальной.

**Цель исследования** — оценить влияние метаболитов различных штаммов E. coli на функциональную активность клеток КРР, имеющих разный мутационный профиль.



**Материалы и методы.** В работе использовались линии KPP НСТ116, НТ29, SW480, SW837 и метаболиты различных штаммов *E. coli*, среди которых были пробиотический штамм *E. coli* М-17 и штаммы, полученные от пациентов с КРР. Линии КРР были охарактеризованы по морфологии, мутационному профилю, экспрессии Е-кадгерина, ядерной фокальной адгезии, уровню миграционной активности до и после воздействия метаболитов. Штаммы *E. coli* были охарактеризованы по биохимической активности, антибиотикорезистентности и биопленкообразованию. Спектр метаболитов оценивали с помощью газовой-жидкостной хроматографии. Миграцию оценивали путем измерения ореола мигрирующих из сфероидов клеток и анализа на заживление ран. Полученные данные анализировали в программе Statistica 10.0.

**Результаты.** Под действием метаболитов *E. coli* клетки КРР вели себя по-разному, в зависимости от миграционного типа. Так, линии с одноклеточной миграцией (НСТ116, SW480) стимулировались метаболитами штаммов, изолированных от пациентов с КРР, в то же время наблюдалось отсутствие выраженного эффекта у линий с коллективным типом миграции (НТ29, SW837). Данный эффект был показан на модели сфероидов и заживления монослоя. Для линий НСТ116 и SW480 показано увеличение мобильности под действием метаболитов опухолевых ассоциированных штаммов *E. coli* по сравнению с контрольным и пробиотическим штаммами ( $p < 0,05$ ).

**Заключение.** Метаболиты различных штаммов *E. coli* могут как увеличивать миграционную активность клеток КРР, так и снижать ее, в зависимости от продуцируемых метаболитов и миграционного типа опухолевой линии.

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

## Анализ экспрессии актинсвязывающих белков опухолевыми клетками и клетками микроокружения опухоли у больных раком гортани

Г.В. Какурина<sup>1,2</sup>, Е.Е. Середина<sup>1,2</sup>, О.В. Черемисина<sup>1</sup>,  
И.В. Кондакова<sup>1</sup>, Е.Л. Чойнзонов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск;  
<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск  
e-mail: kakurinagv@oncology.tomsk.ru

**Введение.** Агрессивность плоскоклеточного рака гортани (ПРГ) обеспечивается высоким метастатическим потенциалом опухолевых клеток, который связан с динамикой цитоскелета. Динамика последнего контролируется различными белками, в том числе актинсвязывающими, о роли которых в метастазировании при ПРГ мало известно, поэтому анализ экспрессии

АСБ опухолевыми клетками и клетками микроокружения опухоли у больных ПРГ актуален.

**Цель исследования** — исследовать содержание актинсвязывающего аденилициклаза-ассоциированного протеина 1, кофилина 1, профилина 1, фасцина 1 и эзрина в опухолевой ткани больных ПРГ и сопоставить данные с наличием лимфогенного метастазирования.

**Материалы и методы.** Тканевый материал был получен от 25 больных ПРГ (T1–4N0–2M0), из которых у 15 человек зарегистрированы лимфогенные метастазы. Анализ экспрессии актинсвязывающих белков в опухолевых клетках гортани и клеточных компонентах микроокружения опухоли проводили методом TSA-модифицированного иммунофлуоресцентного анализа с применением флуорохромов Opal (Akoya Biosciences, США). Для статистического анализа использовалась программа Statistica 22.0.

**Результаты.** Опухолевые клетки первичного опухолевого узла более выраженно экспрессировали белки PFN1, CAP1, EZR и CFL1 по сравнению с клетками микроокружения опухоли ( $p \leq 0,05$ ). Лимфогенное метастазирование не отражалось на количестве опухолевых клеток, экспрессирующих изучаемые белки, но характеризовалось увеличением более чем в 3 раза макрофагов, содержащих PFN1 ( $p \leq 0,05$ ).

**Заключение.** Основываясь на полученных результатах, можно сделать вывод, что выраженность субпопуляций опухолевых клеток, экспрессирующих исследуемые актинсвязывающие белки, в сравнении с клетками микроокружения может косвенно отражать активацию процессов, связанных с ремоделированием цитоскелета и ведущих к прогрессированию заболевания. Сопоставив данные о том, что PFN1 участвует в модуляции иммуносупрессивного микроокружения опухоли, и наши данные, можно предположить, что этот белок может являться кандидатной мишенью для разработки новых диагностических и терапевтических подходов.

## Эффекты бензо(а)пирена на экспрессию ассоциированных с курением генов-мишеней арил-гидрокарбонового рецептора в клетках аденокарциномы легкого

Т.С. Калинина<sup>1</sup>, В.В. Конончук<sup>1</sup>, И.С. Валембахов<sup>1</sup>,  
А.Д. Лукин<sup>1,2</sup>, Л.Ф. Гуляева<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск  
e-mail: tskalinina@frcfm.ru

**Введение.** Курение является одним из основных факторов риска развития РЛ, что связано с содержанием в сигаретном дыме ряда канцерогенов. Наиболее

распространенный подтип РЛ — аденокарцинома легкого (АКЛ). Бензо(а)пирен, один из канцерогенов табачного дыма, образует в клетках ДНК-аддукты, а также изменяет активность арил-гидрокарбонового рецептора (AhR). Поэтому экспрессия генов-мишеней AhR может различаться в опухолях легкого у пациентов с разным статусом курения.

**Цель исследования** — анализ эффектов бензо(а)пирена на экспрессию ассоциированных с курением генов-мишеней AhR в клетках A549.

**Материалы и методы.** Список генов-мишеней AhR был получен с помощью базы данных Harmonizome (ChIP-X Enrichment Analysis). С помощью данных Cancer Genome Atlas были отобраны гены, экспрессия которых различается у курящих и некурящих пациентов с АКЛ. Для оценки экспрессии генов в клетках A549, обработанных бензо(а)пиреном и/или антагонистом AhR  $\alpha$ -нафтофлавоном, проводили ПЦР-РВ.

**Результаты.** Среди 666 генов-мишеней AhR 167 оказались достоверно связаны со статусом курения при АКЛ. Наиболее значимой связью была для генов *PITPNM2*, *RFC3*, *KNTC1*, *SLC7A5*, *TXNRD1* (среди генов с количеством транскриптов выше 0,5 на миллион). В клетках экспрессия *RFC3* увеличивалась в 1,3 раза через 48 ч инкубации с 20 мкМ бензо(а)пирена. Экспрессия *SLC7A5* увеличивалась в 1,4 и 1,6 раз через 6 ч инкубации с 1 мкМ и 20 мкМ бензо(а)пирена соответственно. При инкубации клеток с бензо(а)пиреном и нафтофлавоном изменений в экспрессии генов *RFC3* и *SLC7A5* не наблюдалось. Их экспрессия, согласно Cancer Genome Atlas, увеличена в опухолях курящих пациентов с АКЛ по сравнению с некурящими.

**Заключение.** Обнаружено, что бензо(а)пирен приводит к увеличению экспрессии генов-мишеней AhR *RFC3* и *SLC7A5*. Таким образом, значительное увеличение их экспрессии в опухолях курящих пациентов с АКЛ, вероятно, обусловлено активацией AhR под действием бензо(а)пирена.

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

## Способ получения стабильной клеточной линии, обогащенной раковыми стволовыми клетками

Д.Н. Киндт, А.В. Сагайдак, Т.А. Григорьева

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)»,  
Санкт-Петербург  
e-mail: Persondasha@mail.ru

**Введение.** Основной причиной гибели пациентов, страдающих от различных видов рака, является формирование множественной лекарственной устойчивости клеток опухоли к препаратам различной структуры

и механизма действия. За формирование такой способности, рецидив и метастазирование опухоли ответственны раковые стволовые клетки (РСК), для которых характерна сверхэкспрессия так называемых маркеров стволовости, таких как Oct4 и STAT3, а также повышенная активность ABC-транспортёров.

**Цель исследования** — получение стабильной клеточной линии НСТ116, обогащенной РСК, для дальнейшего изучения их особенностей и разработки эффективного лекарственного препарата, нацеленного на РСК.

**Материалы и методы.** Клетки НСТ116 культивировали в среде DMEM (10 % FBS). Обогащение клеточной линии РСК осуществлялось при помощи клеточной цитометрии с отбором клеток боковой популяции. Они проявляют стволоподобные свойства и слабо окрашиваются внутриклеточными красителями, в том числе Rhodamine 123, который использовался в данной работе. Выживаемость полученной популяции на фоне использования противоопухолевого препарата паклитаксела определяли при помощи МТТ-теста. Экспрессию генов *BCRP*, Р-гликопротеина, *MRP1*, Oct4 и STAT3 в обогащенной линии оценивали методом ПЦР с обратной транскрипцией.

**Результаты.** Последовательно сортируя клетки, мы получили стабильную клеточную популяцию, слабо накапливающую краситель и демонстрирующую по сравнению с диким типом более высокую выживаемость на фоне паклитаксела. Экспрессия генов *BCRP*, Р-гликопротеина и STAT3 в клетках обогащенной культуры была повышена в 2–2,5 раза по сравнению с диким типом.

**Заключение.** В данной работе представлен простой в исполнении способ обогащения клеточной линии РСК. Полученная линия показала высокую стабильность и сохранение своих свойств в течение нескольких недель. Описанная методика представляет удобную модель для изучения РСК и разработки новых лекарственных препаратов, ориентированных на этот вид рака.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 23-13-00344).*

## Вклад моноцитарно-макрофагального компонента опухолевого микроокружения в регуляцию состояния dormancy опухолевых клеток

Н.Е. Кокорева, Е.Ю. Комарова, А.Д. Никитина,  
Б.А. Маргулис, И.В. Гужова

ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург  
e-mail: kokoreva\_ne@gkl-kemerovo.ru

**Введение.** Важнейшей проблемой на пути успешной терапии опухоли является ее рецидивирующий потенциал. Источником вторичной опухоли является популяция клеток с dormancy фенотипом. Способность раковых клеток переходить в состояние покоя и в дальнейшем — в состояние активной пролиферации во многом регулируется деятельностью нескольких белковых систем, обеспечивающих клеточный протеостаз, таких как аутофагия и система белков теплового шока. Рецидив, как полагают, запускается и в значительной степени регулируется опухолевым микроокружением, в том числе клетками моноцитарно-макрофагального ряда.

**Цель исследования** — изучить влияние иммунного компонента микроокружения на регуляцию dormancy состояния раковых клеток.

**Материалы и методы.** В качестве клеточных моделей были выбраны линии аденокарциномы легкого A549, H1299. В качестве модели иммунного опухолевого микроокружения использовалась суспензионная клеточная линия моноцитов THP1. Для моделирования dormancy фенотипа и выхода в репопуляцию клетки переводили на обедненную сывороткой среду и инкубировали в течение 3–9 дней в присутствии THP1, а затем добавляли полную среду. На приборе xCELLigence методом проточной цитометрии и МТТ мы исследовали пролиферацию и гибель опухолевых клеток, а также их клеточный цикл. Методы ПЦР-РВ и вестерн-блоттинга использовали для оценки изменения экспрессии и уровня белков — маркеров аутофагии, пролиферации, стволового фенотипа и ЭМП. Модель dormancy, индуцированной голоданием, была адаптирована для 3D-модели сфероидов.

**Результаты.** На 5-й день культивации в среде без сыворотки наблюдался наиболее высокий процент клеток с арестом клеточного цикла, а также наиболее высокий уровень маркеров аутофагии, стволового фенотипа и ЭМП. THP1 задерживает гибель голодающих клеток, повышает их инвазивный и миграционный потенциал, а также способствует более быстрому выходу из состояния покоя.

**Заключение.** Получена модель dormancy фенотипа, и отражена роль моноцитов в регуляции dormancy состояния.

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

## Моделирование рецидива колоректального рака человека после химиотерапии

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

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

**Введение.** Одним из главных препятствий на пути к успешному лечению онкологических заболеваний является рецидив опухолевого роста. Возможность его возникновения определяется взаимодействием 2 факторов. С одной стороны, опухоль гетерогенна, вследствие чего часть клеток в ней оказывается устойчивой к лечению. С другой стороны, в ходе массовой клеточной гибели, вызванной терапией, из клеток могут высвободиться факторы, дополнительно стимулирующие прогрессию выживших клеток.

Понимание молекулярных основ рецидива опухоли, а также поиск способов его предотвращения невозможны без релевантной модели данного процесса. Ранее нами была разработана двухкомпонентная модель рецидива КРР у мышей, основанная на взаимодействии выживающих (акцепторных) и погибающих (питающих) в ходе ХТ клеток. Следующим необходимым шагом является перенос полученных данных на человеческие клетки КРР.

**Цель исследования** — создание модели рецидива КРР человека на основе взаимодействия выживающих и погибающих в ходе ХТ клеток.

**Материалы и методы.** Для двухкомпонентной модели рецидива КРР мы создали клеточные линии КРР с флуоресцентной (HCT-116-Kat2S) и люминесцентной (HCT-116-luc и HCT-116/ox-luc) метками. При помощи анализа клеточной пролиферации в системе xCELLigence мы выбрали условия для получения питающих клеток (HCT-116-Kat2S). Эффекты их сокультивации с 2 типами акцепторных клеток (HCT-116-luc и HCT-116/ox-luc) оценивали с помощью МТТ-анализа, клоногенного анализа, а также количественной ПЦР. Кроме того, в ходе данной работы мы апробировали методику ортотопического введения клеток иммунодефицитным мышам.

**Результаты.** Мы показали, что питающие клетки вызывают усиление пролиферации резистентных акцепторных клеток, но в то же время вызывают снижение пролиферации чувствительных последних. При этом сокультивация приводит к активации генов, ответ-



ственных за ЭМП, в обоих типах акцепторных клеток. Также мы продемонстрировали, что опухоли, полученные после инъекции клеток в слизистую прямой кишки, были способны к спонтанному метастазированию в печень, легкие и селезенку.

**Закключение.** Мы получили данные, позволяющие сформировать каркас для релевантной модели рецидива опухоли как *in vitro*, так и *in vivo*.

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

## Сравнение характеристик подвижности нормальных и опухолевых клеток

А.С. Куркин<sup>1</sup>, Т.Р. Гараев<sup>2</sup>, Р.Б. Лихоманова<sup>2,3</sup>,  
М.И. Богачев<sup>4,5</sup>, А.Р. Каюмов<sup>5</sup>, М.А. Шевцов<sup>2,3</sup>,  
Д.Е. Бобков<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург;

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург;

<sup>4</sup>ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ» им. В.И. Ульянова», Санкт-Петербург;

<sup>5</sup>ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань  
e-mail: andrejreyn1212@gmail.com

**Введение.** Клеточная миграция имеет важное значение в таких процессах организма, как иммунный ответ, регенерация, формирование и поддержание гомеостаза тканей. В основе подвижности клеток лежат взаимодействие специфических молекул адгезии на поверхности плазматической мембраны с компонентами внеклеточного матрикса и последующая перестройка цитоскелета. Изучение характера движения различных типов клеток позволит выявить ключевые механизмы, участвующие в регуляции миграции и инвазии.

**Цель исследования** — сравнение характеристик подвижности нормальных и опухолевых клеток.

**Материалы и методы.** В работе использовали клеточные линии мезенхимных стволовых клеток костного мозга 5–6-недельного эмбриона FetMSC и глиобластомы человека T98G. Клетки культивировали в 12-луночном планшете на различных матриксах — поли-L-лизине, фибронектине и матригеле. В качестве контроля использовали непокрытые матриксом лунки. Анализ характеристик подвижности (средняя скорость, прямизна трека) проводили с использованием автоматической системы визуализации Image ExFluorger (LCI, Корея). С помощью конфокального микроскопа Olympus FV3000 (Olympus, Япония) оценивали экспрессию рецептора CD44, вовлеченного в процессы клеточной адгезии и миграции.

**Результаты.** Клетки FetMSC продемонстрировали большую среднюю скорость движения по сравнению с T98G:  $52,87 \pm 34,69$  и  $23,96 \pm 16,66$  мкм/ч в контроле соответственно (значения представлены в виде среднего  $\pm$  стандартного отклонения). Значения прямизны треков FetMSC также превышали значения T98G:  $0,31 \pm 0,19$  и  $0,19 \pm 0,12$  соответственно, что может свидетельствовать о более направленном движении нормальных клеток по сравнению с опухолевыми. Среди используемых матриксов наибольшее влияние оказал матригель, на котором показатели средней скорости и прямизны для FetMSC и T98G увеличивались в 1,3 раза по отношению к контролю. Результаты конфокальной микроскопии свидетельствовали о повышенной экспрессии CD44 в клетках T98G, что отражает их высокую способность к адгезии на различных типах внеклеточного матрикса.

**Закключение.** Нормальные клетки обладают более быстрым и направленным движением по сравнению с опухолевыми. На характер этого движения способны оказывать влияние белки внеклеточного матрикса, с которыми клетки взаимодействуют, а также уровень экспрессии CD44 на поверхности плазматической мембраны.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2022-301).*

## Миогенная дифференцировка фибробластов с помощью модуляции экспрессии цитоплазматических актинов

Ю.Г. Левушкина<sup>1</sup>, Н.В. Хромова<sup>2</sup>, М.В. Васильева<sup>2</sup>,  
П.Б. Копнин<sup>2</sup>, В.Б. Дугина<sup>1-3</sup>

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

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

<sup>3</sup>НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва  
e-mail: kracker2000@yandex.ru

**Введение.** Помимо сократительной активности гладкомышечные клетки (ГМК) играют важную роль в поддержании формы сосудов и внутренних органов. Подтипы ГМК характеризуются гетерогенностью по содержанию мышечных изоформ актина. В нормальных условиях при повреждении сосудов наблюдается фенотипическое переключение контрактильного типа ГМК на секреторный, обладающий большей пролиферативной активностью. Подобные переходы возникают и при ряде патологических преобразований, часто сопровождающих онкологические заболевания.

В отличие от мышечных изоформ цитоплазматические  $\beta$ - и  $\gamma$ -актины присутствуют во всех типах кле-

ток и своим соотношением определяют их фенотипические особенности и секреторную активность.

**Цель исследования** — изучить возможность дифференцировки фибробластов в ГМК различных типов путем изменения соотношения цитоплазматических изоформ актина.

**Материалы и методы.** Работу проводили на первичных культурах мезенхимальных клеток подкожного слоя и десны здоровых доноров. С помощью РНК-интерференции с применением лентивирусных конструкций подавляли экспрессию  $\beta$ -актина. В целях пробоподготовки проводили ультразвуковое исследование гомогенизации лизатов. Для выявления цитоскелетных маркеров использовали мышинные моноклональные антитела anti- $\beta$ -CYA, anti- $\gamma$ -CYA, anti- $\gamma$ -SMA anti- $\alpha$ -SM1, anti-Vinculin, anti-Desmin, кроличьи моноклональные и поликлональные антитела anti-SM22 и anti-SMM соответственно. Изменение экспрессии изоформ актина на уровне мРНК оценивали с помощью классического ПЦР-анализа и транскриптомного профилирования путем секвенирования нового поколения, на уровне белка — с помощью вестерн-блоттинга. Также была проанализирована морфометрия клеток на разных сроках дифференцировки.

**Результаты.** В ходе работы были подобраны клеточные культуры и условия для индуцированной дифференцировки фибробластов в ГМК, а также ее маркеры. Проведена количественная оценка изменения соотношения изоформ актина на уровне мРНК и белка, выявлены морфологические характеристики клеток с подавленной экспрессией  $\beta$ -актина.

**Заключение.** Установлено, что при подавлении экспрессии  $\beta$ -актина значительно увеличивается площадь клеток, их форма становится более округлой, появляются выраженные пучки актина на периферии. По результатам вестерн-блоттинга и ПЦР-анализа отмечено компенсаторное увеличение экспрессии других изоформ актина.

Иммуноферментный анализ на маркеры дифференцировки ГМК подтвердил реорганизацию цитоскелета и клеточных контактов.

Таким образом, индуцированная дифференцировка ГМК представляет интерес для моделирования преобразований сосудов при онкологических заболеваниях и разработки терапевтических стратегий.

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

## Универсальный прогностический маркер и новая идеология персонализации лечения онкологических больных

Н.В. Литвяков

НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск  
e-mail: nvlity72@yandex.ru

**Введение.** Были проведены исследования CNA — генетического ландшафта РМЖ ( $n = 100$ ), РЛ ( $n = 100$ ), рака гортани ( $n = 50$ ), толстого кишечника ( $n = 100$ ), РЯ ( $n = 50$ ) и РШМ ( $n = 40$ ). При помощи полногеномного микроматричного исследования на ДНК-чипах CytoScanHD Array (Affymetrix, США) установлены универсальные маркеры на основе амплификаций генов ( $n = 50$ ) стволовости и активности WNT-сигналинга (в зависимости от CNA-генов ( $n = 12$ ) — активаторов и негативных регуляторов WNT-сигналинга ( $n = 5$ )), которые позволяют с беспрецедентной точностью прогнозировать исход (безметастатическую или безсобытийную выживаемость в зависимости от локализации) у больных с различными опухолями. Существующие прогностические факторы не обладают универсальностью (могут использоваться только для одной локализации или при молекулярном подтипе рака), диагностическая точность известных прогностических факторов колеблется в пределах 40–65 %. Выявленные нами маркеры позволяют прогнозировать исход (безметастатическую или безсобытийную выживаемость в зависимости от локализации) по 6 локализациям с диагностической точностью (по сумме чувствительности и специфичности, деленных на 2) в пределах 78–89,5 % (в зависимости от локализации). Уровень значимости  $p$  колеблется в пределах от  $8,1E-14$  до  $0,000016$ . Универсальность выявленных маркеров свидетельствует об их непосредственной роли в прогрессии опухолей. Кроме того, на основании этих маркеров можно позиционировать новую идеологию персонализации лечения онкологических больных операбельных раком, которая на предоперационном этапе должна быть направлена не на полную элиминацию опухоли, а на элиминацию опухолевых клонов, содержащих амплификации генов стволовости. Послеоперационное лечение ставится в зависимость от потенциальной способности опухоли к метастазированию, которая определяется по наличию в операционном материале клонов с амплификациями и способности противостоять химиотерапевтическому шоку, что определяется активностью WNT-сигналинга.

**Заключение.** Новая идеология лечения опухолей позволяет значительно снизить перелечивание пациентов, определяет целесообразность периоперационной терапии, новый критерий эффективности предоперационной терапии и индивидуальную стратегию лечения пациентов.

## Роль мембранно-связанного белка теплового шока mHsp70 в миграции и инвазии клеток глиобластомы

Р.Б. Лихоманова<sup>1,2</sup>, Г.К. Фофанов<sup>2</sup>, Н.Д. Аксенов<sup>1</sup>,  
Р.Х. Зиганшин<sup>3</sup>, Н.М. Юдинцева<sup>1,2</sup>, М.А. Шевцов<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России,  
Санкт-Петербург;

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт биоорганической химии  
им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН», Москва  
e-mail: tagaeva97@yandex.ru

**Введение.** Белок теплового шока Hsp70 сверхэкспрессируется в опухолевых клетках различного происхождения, в том числе глиобластомы. Повышенное содержание белка в цитоплазме, вероятно, способствует его специфической локализации на плазматической мембране опухолевых клеток, что делает мембранную форму Hsp70 (mHsp70) потенциальной мишенью для таранности злокачественных новообразований. Спектр функций, который выполняет mHsp70, до сих пор не до конца изучен.

**Цель исследования** — исследование роли mHsp70 в миграции и инвазии клеток глиобластомы.

**Материалы и методы.** В работе использовали клеточные линии С6 глиомы крысы, T98G и U251 глиобластомы человека и первичные культуры клеток глиобластомы человека, выделенные из кусочков опухоли от нейроонкологических пациентов ( $n = 4$ ). В клетках выявляли экспрессию mHsp70 и сортировали на 2 субпопуляции — с высокой (mHsp70<sup>High</sup>) и низкой (mHsp70<sup>Low</sup>) экспрессией белка. Вклад mHsp70 в миграцию и инвазию оценивали с помощью теста на застывание раны, ручного и автоматического прижизненного трекинга и метода Transwell. В работе также исследовали влияние ингибиторов Hsp70 PES и JG-98 на клеточную подвижность. Для выявления возможных белковых партнеров mHsp70, регулирующих клеточную подвижность, проводили протеомный анализ липидных рафтов.

**Результаты.** Субпопуляции mHsp70<sup>High</sup> приводили к полному застыванию раны за более короткий промежуток времени по сравнению с субпопуляциями mHsp70<sup>Low</sup>. Ручной и автоматический трекинг показали, что mHsp70<sup>High</sup> характеризуются более высокой скоростью движения, чем mHsp70<sup>Low</sup>. Применение ингибиторов Hsp70 PES и JG-98 способствовало значительному снижению средней скорости движения клеток, а также уменьшению количества инвазирующих клеток, при этом наибольший эффект наблюдался для субпопуляций mHsp70<sup>High</sup>. Протеомный анализ липидных рафтов клеток глиобластомы и последующее построение сетей белок-белковых взаимодействий выявили связь между mHsp70 и белками, участвующими в ремоделировании цитоскелета и внеклеточного

матрикса, адгезии и миграции (CDC42, RHOA, NCAM1, NCAM2, MMP14).

**Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о роли mHsp70 в миграции и инвазии клеток глиобластомы. Детальное исследование механизмов участия mHsp70 в подвижности клеток, а также поиск новых мишеней для проведения сочетанной терапии способствуют разработке новых подходов к лечению глиобластомы.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2022-301).*

## Сочетанное действие ингибиторов Rac1 и Hsp70 на подвижность клеток глиобластомы человека линии T98G

А.В. Лукачева<sup>1,2</sup>, С. Шивасурия<sup>3</sup>, М.А. Шевцов<sup>1,2</sup>,  
Д.Е. Бобков<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России,  
Санкт-Петербург;

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет  
информационных технологий, механики и оптики»,  
Санкт-Петербург  
e-mail: av.lukacheva@yandex.ru

**Введение.** Rac1 — небольшой (~21 кДа) ГТФ-связывающий белок семейства Rho ГТФаз. Повышенная экспрессия Rac1 наблюдается при различных видах рака, включая глиобластому. Белок имеет решающее значение в миграции и инвазии клеток путем регуляции актинового цитоскелета. Известно, что в высокоинвазивных клетках глиобластомы экспрессируется мембранно-связанный Hsp70, который вовлечен в регуляцию миграции и может являться потенциальной мишенью для противоопухолевой терапии.

**Цель исследования** — изучить влияние сочетанного действия ингибиторов Rac1 (NSC23766) и Hsp70 (PES и JG98) на подвижность клеток глиобластомы линии T98G.

**Материалы и методы.** В работе использовали клеточную линию T98G. Клетки обрабатывали различными концентрациями ингибитора Rac1 NSC23766 (1, 10 и 50 мкМ), отдельно и в сочетании с ингибиторами Hsp70 PES (1 мкМ) и JG98 (50 нМ). Треки подвижных клеток регистрировали с помощью автоматической системы визуализации клеток Image ExFluorger (LCI, Корея). Съемку производили каждые 15 мин в течение 24 ч. Полученные результаты, представленные в виде медианных значений (ДИ = ± 95 %), статистически обрабатывали с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 9 (GraphPad Software Inc., США).

**Результаты.** Ингибирование Rac1 с помощью NSC23766 значительно снижало среднюю скорость клеток T98G. Наиболее выраженное снижение наблюдали при самой высокой концентрации 50 мкМ (8,6 мкм/ч —

контроль, 4,7 мкм/ч — 50 мкМ NSC23766). Обработка только PES и JG98 значительно увеличила подвижность клеток по сравнению с контрольной группой. Однако в сочетании с NSC23766 (10 и 50 мкМ) средняя скорость была заметно снижена, что подчеркивает эффективность ингибирования Rac1 даже в присутствии агентов, способствующих подвижности.

**Закключение.** Ингибирование Rac1 с помощью NSC23766 значительно снижает подвижность клеток T98G, демонстрируя свой потенциал в качестве терапевтической мишени для замедления прогрессирования глиобластомы. Влияние PES и JG98 ослабляет ингибирующее действие NSC23766 на подвижность клеток. Это указывает на сложную связь между Hsp70 и Rac1, где Hsp70 может играть защитную роль в поддержании функции и стабильности Rac1 при воздействии ингибиторов.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2022-301).*

## Сравнение количественных показателей экспрессии лиганда PD-L1 на уровне белка и мРНК в ткани рака мочевого пузыря

Д.Ж. Мансорунов<sup>1</sup>, А.Н. Гришанина<sup>2</sup>, Т.А. Богуш<sup>2</sup>,  
А.А. Алимов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Медико-генетический научный центр  
им. академика Н.П. Бочкова», Москва;

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

**Введение.** Рак мочевого пузыря (РМП) является распространенным злокачественным новообразованием, занимая 10-е место по заболеваемости в мире. Ингибиторы иммунных контрольных точек PD-1/PD-L1 рассматриваются как один из перспективных подходов в лекарственной терапии РМП. Однако значительная часть пациентов не отвечает на такое лечение. Совершенствование схем иммунотерапии данного заболевания основывается на расширении представления о молекулярных механизмах, обеспечивающих иммунотолерантность. В частности, на анализе особенностей экспрессии мРНК интерферон-γ-зависимого гена *CD274* и кодируемого им белка, уровень которого в клетке регулируется несколькими независимыми механизмами протеосомной и лизосомной деградации.

**Цель исследования** — сравнить количественные показатели экспрессии лиганда PD-L1 на уровне белка и мРНК в ткани уротелиального РМП.

**Материалы и методы.** Исследовано 37 образцов ткани уротелиального РМП: немышечно-инвазивный РМП — 23 образца, мышечно-инвазивный РМП — 14 образцов. Уровень экспрессии гена *CD274*, кодиру-

ющего лиганд PD-L1, оценивали при помощи количественной ПЦР и программного обеспечения QuantStudio Design and Analysis методом Relative Standard Curve. Количественная иммунофлуоресцентная оценка экспрессии белка PD-L1 проведена с использованием метода проточной цитометрии.

**Результаты.** Медиана уровня экспрессии гена *CD274* в ткани мышечно-инвазивного РМП в 5 раз выше по сравнению с немышечно-инвазивным ( $p = 0,0001$ ), тогда как для экспрессии белка PD-L1 показаны противоположные результаты: в ткани мышечно-инвазивного РМП медиана уровня экспрессии PD-L1 в 1,4 раза ниже по сравнению с немышечно-инвазивным РМП ( $p = 0,006$ ). Корреляционный анализ по Спирмену выявил наличие обратной умеренной корреляционной связи между количественными показателями экспрессии лиганда PD-L1 и гена *CD274* ( $r = -0,47$ ,  $p = 0,003$ ).

**Закключение.** В настоящем исследовании обнаружена ассоциация пониженной экспрессии белка PD-L1 с мышечной инвазией РМП. Выявлена обратная корреляционная связь между количественными показателями экспрессии PD-L1 в ткани РМП на уровне белка и мРНК. Полученные данные могут быть полезны при исследовании молекулярных механизмов противоопухолевого иммунного ответа.

## Белковые комплексы, модулируемые в опухолевых клетках под действием химиотерапии

Б.А. Маргулис

ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург  
e-mail: margulis@incras.ru

**Введение.** Эффекты наиболее широко используемых в ХТ средств на клеточном уровне хорошо изучены, но молекулярные механизмы действия таких лекарственных препаратов исследованы намного слабее и часто сводятся к описанию изменений экспрессии отдельных генов и, соответственно, их белковых продуктов. Недостаточность такой информации очевидна, и поэтому мы решили более подробно исследовать комплексы белков с изменяющимся содержанием в клетках под действием различных противоопухолевых препаратов.

**Цель исследования** — представить результаты, собранные за 10–15 лет по теме межбелковых комплексов в раковых клетках.

**Материалы и методы.** На разных этапах работы использовали технологии анализа поведения клеток, в частности xCELLigence, а также биохимические и иммунохимические методы анализа белков и их взаимодействий.

**Результаты.** В качестве основного белка, для которого был выполнен анализ межмолекулярных связей, был выбран шаперон Hsp70. Полученные данные говорят о том, что в концентрациях, достигаемых в клет-



ке под действием противоопухолевых препаратов, он способен связывать, помимо уже описанных в литературе, белки GAPDH, HMGB1 и каспазы 3 и 7. Реагируя с этими белками, шаперон усиливает их активность или, напротив, снижает ее и, соответственно, изменяет их роль в клеточных процессах, например в апоптозе (каспазы 3 и 7), запуске компенсаторной пролиферации (HMGB1) или судьбе клетки в условиях окислительного стресса (GAPDH).

**Закключение.** Из полученных данных следует, что в случаях взаимодействия полипептида с большой группой различных по функции белков можно говорить о значении не его (или их) количества в клетке, а о важности взаимоотношений их концентраций, то есть о том, хватит ли указанного количества для изменения функции белков в общей картине жизнедеятельности клетки.

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

### Влияние внутривенной и ингаляционной анестезии на синтез белка теплового шока Hsp70 в опухолевых клетках

Д.М. Марченко<sup>1,2</sup>, Е.Р. Михайлова<sup>1</sup>, Е.А. Леонова<sup>2</sup>,  
С.М. Ефремов<sup>2</sup>, Б.А. Маргулис<sup>1</sup>, И.В. Гужова<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург  
e-mail: berbimot@yandex.ru

**Введение.** В настоящее время одним из наиболее эффективных методов лечения онкологических заболеваний является хирургическое вмешательство. Тем не менее риск развития рецидива после проведения операции остается ключевой проблемой современной онкологии, факторами которой могут являться в том числе препараты общей анестезии. Анестетики могут влиять на синтез белка теплового шока Hsp70 в опухолевых клетках, высокий уровень которого, как известно, сопряжен с процессами поддержания гомеостаза и пролиферации, что в дальнейшем может привести к рецидиву онкозаболевания.

**Цель исследования** — изучение влияния пропофола (внутривенная анестезия) и севофлурана (ингаляционная анестезия) на уровень синтеза внутри- и внеклеточного белка Hsp70 в опухолевых клетках.

**Материалы и методы.** В анализе использовали опухолевые клетки 3 линий: A549 (аденокарцинома легкого), H460 (аденокарцинома легкого), DLD-1 (КРР). Пропофол добавляли непосредственно в ростовую среду к клеткам. В случае с севофлураном клетки помещали в камеру, содержащую данный анестетик в газообразной форме. Количество внутриклеточного Hsp70 оценивали с помощью вестерн-блоттинга; вне-

клеточного — посредством двухсайтового иммуноферментного анализа. Также изучали выживаемость опухолевых клеток методом МТТ с применением химиотерапевтического агента цисплатина.

**Результаты.** Пропофол индуцирует синтез Hsp70 в клетках всех анализируемых линий на 2-е сутки после воздействия, существенно не влияя на их жизнеспособность. Напротив, севофлуран способствует большей выживаемости клеток всех линий без изменения содержания данного белка.

**Закключение.** Пропофол и севофлуран по-разному влияют на синтез Hsp70 в опухолевых клетках. Однако индуцируемый пропофолом рост содержания данного белка не приводит к большей жизнеспособности клеток. Кроме того, севофлуран способен активировать выживаемость клеток без индукции синтеза Hsp70. Это может говорить о существовании других механизмов в опухолевых клетках, на которые влияют анестетики и за счет которых меняется их активность. Также полученные результаты говорят о необходимости проведения других тестов, направленных на изучение пролиферативной и миграционной активности клеток, таких как тест на образование колоний, зарастание царапины и другие.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 23-25-00078).*

### Индивидуальная устойчивость к гипоксии как фактор прогрессии карциномы легкого Льюиса у мышей

М.А. Маяк, Д.Ш. Джапилова, О.В. Макарова

ФГБНУ «НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына»

ФГБНУ «Российский научный центр хирургии

им. акад. Б.В. Петровского», Москва

e-mail: rita.mayak@yandex.ru

**Введение.** Ранее показано, что течение воспалительных реакций и инициация опухолей зависят от индивидуальной устойчивости к гипоксии. Однако вопрос о прогрессии и метастазировании опухолей у высоко- и низкоустойчивых к гипоксии животных остается открытым.

**Цель исследования** — охарактеризовать молекулярно-биологические особенности прогрессии и метастазирования LLC у мышей с разной устойчивостью к гипоксии.

**Материалы и методы.** Работа проведена на самцах мышей линии C57BL/6, разделенных на высоко- и низкоустойчивых ( $n = 30$ ,  $n = 27$  соответственно) к гипоксии, которым подкожно вводили 5 млн клеток LLC. Мышей выводили из эксперимента на 21-е и 28-е сутки после введения LLC. Проводили забор крови из шейных вен для лабораторного анализа. Для морфологического исследования получали первичный опухолевый узел,

в котором оценивали митотический индекс (%), и первое легкое, где с использованием ImageJ вычисляли площадь метастазов. Методом ПЦР-РВ в печени определяли экспрессию генов *Hif1a*, *Nfkb*, *Tnfa*, *Tgfb*, *III*, *II6*, *II10* относительно *Gapdh*.

**Результаты.** Различий по показателям гибели, частоты формирования опухолей и метастазирования между высоко- и низкоустойчивыми к гипоксии мышами не обнаружено. У всех мышей на 28-е сутки эксперимента по сравнению с контрольными группами обнаружено повышение абсолютного числа лейкоцитов, моноцитов и гранулоцитов, снижение относительного содержания лимфоцитов при повышении гранулоцитов. Обнаружено снижение числа эритроцитов и содержания гемоглобина в крови по сравнению с контрольными группами. На 21-е и 28-е сутки обнаружен более высокий митотический индекс клеток опухолей у высокоустойчивых к гипоксии мышей. Различий по показателю площади метастазов в легких между группами не обнаружено в обоих экспериментах. Экспрессия генов *Hif1a* и *Nfkb* в печени на 28-е сутки была выше у низкоустойчивых животных, при этом у них обнаружено повышение экспрессии гена *Nfkb* на 28-е по сравнению с 21-ми сутками. У низкоустойчивых к гипоксии мышей обнаружена более высокая по сравнению с высокоустойчивыми активация экспрессии провоспалительного цитокина *Tnfa* (на 21-е и 28-е сутки) и противовоспалительного цитокина *Tgfb* (на 28-е сутки). Только у низкоустойчивых мышей выявлено повышение экспрессии *Tnfa* и снижение экспрессии *Tgfb* на 21-е сутки по сравнению с контрольной группой. Изменений экспрессии генов *III*, *II6* и *II10* не выявлено.

**Заключение.** Низкоустойчивые к гипоксии мыши при прогрессии LLC отличаются более выраженной провоспалительной реакцией. Высокоустойчивые к гипоксии животные характеризуются более высоким митотическим индексом первичных опухолей. Различий по показателю площади метастазов в легких между группами не выявлено.

## MSLASpheroidStamp – клеточные сфероиды, доступные каждому

А.С. Минин<sup>1</sup>, А.В. Белоусова<sup>2</sup>, И.В. Зубарев<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт физики металлов им. М.Н. Михеева  
УрО РАН», Екатеринбург;

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт иммунологии  
и физиологии УрО РАН», Екатеринбург;

<sup>3</sup>Московский физико-технологический институт, Москва  
e-mail: calamatica@gmail.com

**Введение.** 3D-культуры клеток, такие как клеточные сфероиды, активно используются в биологии для моделирования биологических процессов, изучения клеточно-клеточных взаимодействий и скрининга различных лекарств и становятся незаменимыми для лаборантов, работающих с культурами клеток. Существует

множество методов получения сфероидов, различающихся по стоимости, трудоемкости и удобству. Одним из наиболее удобных и доступных методов является использование агарозных микрокапсул.

**Материалы и методы.** В работе использовались различные культуры клеток: НЕК-293, ACS52 Telo, HeLa, RD, Vero, полученные из банка клеточных культур МГУ и Санкт-Петербургской коллекции культур клеток. Для подтверждения возможности оценки цитотоксического действия веществ на сфероиды использовались различные цитостатики (доксорубин, оксалиплатин, эверолимус, топотекан), а также магнитные наночастицы Fe@C-COOH и Fe@C-NH<sub>2</sub>. Штампы и молды изготавливались при помощи 3D-принтера Anycubic Mono. 3D-модели штампов, а также форм для изготовления силиконовых молдов вместе с инструкциями доступны под свободной лицензией на GitHub.

**Результаты.** Мы разработали подходы к изготовлению агарозных микрокапсул в стандартном культуральном пластике с использованием молдов и штампов, изготовленных на дешевом (<300 USD) MSLA 3D-принтере. Нами была продемонстрирована возможность культивирования сфероидов в микрокапсулах, сформированных в тонком слое агарозы в чашках со стеклянным дном. Также была продемонстрирована возможность изучения токсического воздействия различных веществ и наночастиц на сфероиды в микрокапсулах, изготовленных в лунках стандартных 96-луночных планшетов. На различных цитотоксических препаратах продемонстрирована возможность проведения скрининговых исследований на клеточных сфероиды, изготовленных с использованием полученной модели.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ  
(грант № 22-74-10041).

## Поиск сигнальных путей, обеспечивающих устойчивость клеток множественной миеломы к карфилзомибу

Н.И. Моисеева, Л.А. Лалетина, К.В. Калабина,  
Н.Н. Калигин, К.А. Щербакова

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

**Введение.** Ингибиторы протеасом — бортезомиб, карфилзомиб и иксазомиб — являются постоянными компонентами в терапии множественной миеломы. Ранее мы получили устойчивые к ингибиторам протеасом сублинии из культуры множественной миеломы АМО-1 и показали с помощью ПЦР-РВ и проточной цитометрии, что в сублинии АМО-1/CFZ происходит значительный рост экспрессии белка ABC-транспортера ABCB1 (Р-гликопротеин, Р-gr).

**Цель исследования** — поиск сигнальных путей, приводящих к повышению экспрессии Р-гр в устойчивой к карфилзомибу сублинии.

**Материалы и методы.** Клетки АМО-1 и сублиния АМО-1/CFZ культивировались в среде RPMI1640 с добавлением 12 % сыворотки. Оценка устойчивости к карфилзомибу проводилась в МТТ-тестах, экспрессия Р-гликопротеина определялась с помощью проточной цитометрии и вестерн-блоттинга, разделение субпопуляций проводилось на приборе для клеточного сортирования BD FACSAria II.

**Результаты.** Мы проанализировали количество белка Р-гр в чувствительной линии АМО-1 и сублиниях АМО-1/CFZ, АМО-1/BTZ и АМО-1/IXZ с помощью вестерн-блоттинга. Ни в линии АМО-1, ни в сублиниях АМО-1/BTZ и АМО-1/IXZ Р-гр не экспрессировался и был обнаружен в значительном количестве только в АМО-1/CFZ. Известно, что к гиперэкспрессии Р-гр приводит активация PI3K/АКТ-сигнального пути. Разницы между АМО-1 и АМО-1/CFZ ни в количестве Akt, ни в количестве фосфо-Akt не было (по данным вестерн-блоттинга), но стоит отметить, что в обеих культурах эти белки экспрессированы на очень высоком уровне. Проточная цитометрия продемонстрировала, что часть АМО-1/CFZ остается негативной по Р-гр. Доля негативной субпопуляции коррелировала со степенью устойчивости АМО-1/CFZ и длительностью инкубации без препарата. Поэтому на следующем этапе с помощью клеточного сортирования мы разделили АМО-1/CFZ на Р-гр-позитивную и Р-гр-негативную популяции (последняя варьировала от 15 до 25 % клеток) и отправили данные пробы на транскриптомный анализ, который поможет выявить сигнальные пути, ответственные за гиперэкспрессию Р-гр.

**Закключение.** Р-гликопротеин обеспечивает резистентность клеток АМО-1/CFZ к карфилзомибу, однако его гиперэкспрессия напрямую не связана с активацией Akt-сигнального пути.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 24-25-00491).*

## Оценка экспрессии генов нескольких семейств ABC-транспортеров в первичных культурах клеток глиобластом

Н.И. Моисеева, Л.А. Лалетина, Е.Ю. Рыбалкина,  
А.А. Вайман, О.Ю. Сусова

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

**Введение.** Одним из механизмов множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток является экспрессия белков ABC-транспортеров — ABCB1

(Р-гликопротеин) и ABCC1. Наше внимание привлекли другие члены этого семейства — белки ABC-A и G, которые не всегда связаны непосредственно с выбросом лекарств из клеток, но могут за счет других механизмов обеспечивать множественную лекарственную устойчивость. Мы провели пилотное исследование экспрессии генов *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCA1*, *ABCA6*, *ABCG1* в глиобластоме.

**Материалы и методы.** В анализ вошли первичные культуры опухолевых клеток, полученных от 11 пациентов с глиобластомой. Экспрессия генов оценивалась с помощью ПЦР-РВ. Геном домашнего хозяйства был *RPL0*. Статистическая обработка данных проводилась с использованием коэффициента корреляции Спирмена и теста Манна–Уитни (оба теста для непараметрических данных).

**Результаты.** Мы проанализировали экспрессию генов ABC-транспортеров в 11 образцах первичных культур глиобластомы. Можно отметить, что ген *ABCB1* в среднем экспрессировался на самом высоком уровне — только в 2 пробах из 12 обнаружилась низкая экспрессия. По экспрессии гена *ABCC1* пробы разделились на группы со средним уровнем экспрессии и с очень низким/недетектируемым уровнем. Самая низкая экспрессия в глиобластоме была у гена *ABCA6* — в 20–40 раз ниже, чем у других генов ABC-транспортеров. Анализ корреляции их экспрессии в первичных культурах показал, что уровень *ABCC1* имеет отрицательную корреляцию с уровнем гена *ABCG1* ( $r = -0,70$ ,  $p = 0,017$ ), а уровни экспрессии *ABCA1* и *ABCA6* положительно коррелируют друг с другом ( $r = 0,63$ ,  $p = 0,03$ ). Также мы разделили пациентов на группы с первичной глиобластомой и рецидивом глиобластомы (6 и 5 пациентов соответственно), однако различия в экспрессии исследуемых генов между группами мы не обнаружили.

**Закключение.** «Неклассические» гены ABC-транспортеров *ABCA1*, *ABCA6* и *ABCG1* экспрессируются в первичных культурах на достаточно высоком уровне со значительной разницей между образцами. Оценка их биологической значимости требует дальнейших исследований.

*Работа выполнена при поддержке  
Министерства здравоохранения РФ  
(НИОКТР № 123021500068—8 NUYO-2023-0009).*

## Циркулирующие гранулоциты низкой плотности при опухолях почки

И.Р. Мягдиева, Т.В. Абакумова, Д.Р. Долгова,  
Р.Ш. Зайнеева, Т.П. Генинг, Г.В. Галиева

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет»,  
Ульяновск  
e-mail: Ilseya2015@yandex.ru

**Введение.** Увеличение в крови субпопуляции нейтрофилов низкой плотности CD15<sup>+</sup>CD66b<sup>+</sup> по данным

ряда авторов характерно для онкологических больных. Показано, что нейтрофилы с этим фенотипом склонны проявлять иммуносупрессивные свойства и рассматриваются как проопухолевые.

**Цель исследования** — оценка количества циркулирующих гранулоцитов низкой плотности при РП.

**Материалы и методы.** Объектом исследования явились циркулирующие нейтрофилы пациентов с РП светлоклеточного типа до лечения I–II и III–IV стадий ( $n = 74$ , медиана возраста 66 лет), условно здоровых доноров (группа контроля) ( $n = 20$ , медиана возраста 68 лет) и пациентов с доброкачественными новообразованиями почки ( $n = 18$ , медиана возраста 54 года). Исследование одобрено этическим комитетом ИМЭ и ФКУЛГУ (протокол № 1 от 15.01.2020). Чистую фракцию нейтрофилов (92–94 %) выделяли из венозной крови на двойном градиенте плотности растворов фиколла-верографина и доводили до концентрации  $5 \times 10^6$  клеток/мл. Методом проточной цитометрии (BioSino, Китай) оценивали экспрессию рецепторов CD15, CD66b (%) (Sony Biotechnology, США). (Me, Q1–Q3). Статистическая значимость различий оценивалась при помощи U-критерия Манна–Уитни ( $p \leq 0,05$ ). Использовали Jamovi 2.3.28.

**Результаты.** Показано значимое повышение количества CD15<sup>+</sup>CD66b<sup>+</sup>-нейтрофилов в группах с РП I–II стадии (67,3 % (60,0–82,0),  $p = 0,016$ ) и доброкачественными новообразованиями почки (80,5 % (64,8–90,3),  $p = 0,001$ ) относительно группы контроля (54,8 % (47,9–66,2)). При этом количество CD15<sup>+</sup>CD66b<sup>+</sup>-нейтрофилов на начальных стадиях РП было значимо ниже относительно группы пациентов с доброкачественными новообразованиями почки ( $p = 0,008$ ).

**Закключение.** Увеличение количества нейтрофилов с фенотипом CD15<sup>+</sup>CD66b<sup>+</sup> позволяет предположить наличие опухолевого процесса в почке. Наблюдаемая динамика количества гранулоцитов низкой плотности не позволяет предполагать проопухолевую роль нейтрофилов фенотипа CD15<sup>+</sup>CD66b<sup>+</sup> при нераспространенном светлоклеточном РП.

## Роль метилтрансферазы Set7/9 в регуляции туморогенных свойств клеток нейробластомы человека

Е.Д. Наминат, К.А. Фролова, А.Н. Назаров,  
С.Е. Парфеньев, О.Ю. Шувалов, Н.А. Барлев, А.А. Дакс  
ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург  
e-mail: naminat03@gmail.com

**Введение.** Нейробластома (НБ) — это эмбриональное злокачественное образование симпатической нервной системы, состоящее в основном из недифференцированных клеток и характеризующееся быстрым агрессивным ростом и развитием метастазов. Таким образом, исследование механизмов образования и про-

грессии НБ является чрезвычайно актуальной задачей. Метилтрансфераза Set7/9 участвует в регуляции многих онкоассоциированных процессов за счет большого количества мишеней. Известно, что Set7/9 осуществляет метилирование гистонов (H3K4Me1) и негистоновых белков ( $\beta$ -катенин, p53 и др.), что, в свою очередь, способствует активации или ингибированию как транскрипции, так и белков-мишеней. Кроме того, Set7/9 играет важную роль в Wnt/ $\beta$ -catenin и Hippo/YAP сигнальных путях, которые связаны с поддержанием пула раковых стволовых клеток.

**Цель исследования** — изучение роли метилтрансферазы Set7/9 в формировании туморогенных свойств клеток НБ.

**Материалы и методы.** В рамках данной работы использовалась клеточная линия НБ человека SH-SY-5Y со стабильным нокдауном Set7/9. В ходе исследования были получены трансгенные клеточные линии НБ с репортерной конструкцией, содержащей респонсивные элементы стволовых факторов Oct4/Sox2, слитых с геном mCherry. Размер субпопуляции клеток с активацией Oct4/Sox2 определяли с помощью проточной цитофлуориметрии. Оценку влияния лекарственных препаратов на клетки проводили с помощью МТТ-теста.

**Результаты.** В результате биоинформатического анализа мы показали, что сниженный уровень экспрессии Set7/9 достоверно коррелирует с более продолжительной выживаемостью пациентов с НБ.

Далее мы оценили чувствительность клеток НБ SH-SY-5Y с нокдауном Set7/9 к доксорубину и цисплатину, применяющимся в клинической практике. В результате мы продемонстрировали, что подавление Set7/9 приводит к сенсibilизации клеток линии SH-SY-5Y к обоим препаратам, что согласуется с данными, полученными в результате биоинформатического анализа.

Мы также изучили влияние статуса Set7/9 на размер субпопуляции клеток SH-SY-5Y, характеризующейся активацией стволовых факторов Oct4/Sox2. Мы обнаружили, что подавление Set7/9 приводит к сокращению стволовой субпопуляции, что также согласуется с данными, свидетельствующими об онкогенной роли Set7/9 в данной клеточной модели НБ.

**Закключение.** На основании полученных данных мы полагаем, что Set7/9 участвует в положительной регуляции экспрессии онкоассоциированных факторов в клетках НБ и в поддержании пула раковых стволовых клеток в опухоли. Таким образом, метилтрансфераза Set7/9 может рассматриваться как мишень для разработки таргетной терапии с использованием препаратов, ингибирующих ее активность.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ  
(грант № 24-75-10103).



## Сравнительная оценка влияния ингибирования электровозбудимых натриевых каналов на подвижность клеток первичных культур мультиформной глиобластомы человека

Е.А. Оганесян<sup>1,2</sup>, М.М. Шаматова<sup>1</sup>, М.А. Шевцов<sup>1,2</sup>,  
Н.М. Юдинцева<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России,  
Санкт-Петербург

e-mail: praskovya\_p@mail.ru

**Введение.** Инфильтрация клеток мультиформной глиобластомы в здоровые ткани является одним из основных факторов, влияющих на прогрессирование заболевания. Клеточная подвижность регулируется сетью сигнальных путей, среди которых выделяют потенциалзависимые ионные каналы. Известно, что различные фармакологические модуляторы этих каналов были использованы для ингибирования инвазии при различных типах карцином, но на моделях подвижности клеток мультиформной глиобластомы они мало изучены. Ранее с помощью метода patch clamp в мембранах клеток первичной культуры мультиформной глиобластомы были выявлены электровозбудимые натриевые каналы  $Na_v$ , которые блокировали тетродотоксином. Было показано, что их плотность в плазматической мембране в клетках первичных культур мультиформной глиобластомы различается.

**Цель исследования** — провести сравнительную оценку влияния ингибирования электровозбудимых натриевых каналов на подвижность клеток первичных культур мультиформной глиобластомы.

**Материалы и методы.** В работе использовали клетки первичных культур мультиформной глиобластомы, выделенные по стандартной методике из послеоперационного материала (ANI, IBD, TMS). Оценка клеточной подвижности выполняли с использованием автоматической системы визуализации Image ExFluor. Съемку полей зрения ( $n = 5$ ) производили каждые 15 мин в течение 24 ч. Для ингибирования электровозбудимых натриевых каналов использовали тетродотоксин в качестве контрольной клетки без воздействия ингибитора. Полученные результаты статистически обрабатывали в программе GraphPad Prism. Данные представлены в виде медианных значений с использованием 95 % ДИ. Проверку на нормальность проводили тестом Колмогорова—Смирнова. Данные были распределены аномально. Для анализа различий с контролем использовали U-критерий Манна—Уитни. Полученные данные имели высокую статистическую достоверность.

**Результаты.** Добавление тетродотоксина снижало скорость движения клеток во всех первичных культурах по сравнению с контрольной группой. При этом наибольшее снижение скорости было выявлено у кле-

ток с повышенной плотностью каналов, что может свидетельствовать об участии  $Na_v$  в клеточной подвижности.

**Заключение.** Влияние ингибитора электровозбудимых натриевых каналов на клеточную подвижность может свидетельствовать о возможности использования  $Na_v$  в качестве мишени для снижения инвазии опухолевых клеток мультиформной глиобластомы.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2022-301).*

## Делеция экзона 14 гена *MET* при немелкоклеточном метастатическом раке легкого

Н.А. Огнерубов

ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия  
непрерывного профессионального образования»

Минздрава России, Москва

e-mail: ognerubov\_n.a@mail.ru

**Цель исследования** — оценить эпидемиологию редких мутаций гена *MET* при метастатическом НМРЛ как основу персонализированной терапии.

**Материалы и методы.** В ретроспективное исследование включены 403 больных НМРЛ с I–IV стадией на этапе первичной диагностики и прогрессии при динамическом наблюдении за период с июля 2021 г. по июль 2024 г. Возрастной диапазон составил от 42 до 81 года, медиана — 62,3 года. Отмечалось преобладание лиц мужского пола. Соотношение мужчин/женщин было 2,8:1. Молекулярно-генетические исследования проводились на образцах ДНК опухолевой ткани ИГХ-методом и ПЦР.

**Результаты.** В указанной группе различные мутации были выявлены у 208 пациентов с НМРЛ (51,6 %). Основные аномалии *MET*, включая делецию экзона 14 *MET*, амплификацию и гиперэкспрессию, установлены у 17 (8,2 %) больных диссеминированным НМРЛ. Среди них драйверные мутации пропуска экзона 14 *MET* определялись у 9 пациентов. Возрастной диапазон — от 60 до 81 года, средний возраст составил 71,6 года, в то время как амплификация и гиперэкспрессия гена *MET* наблюдались у лиц более молодого возраста с медианой 63,9 года. Подавляющее большинство пациентов были мужчинами — 8 (88,9 %) больных, и 1 женщина. Чаще всего первичная опухоль локализовалась в верхней доле — у 6 (66,7 %) больных, в нижней доле — у 3 (33,3 %). Гистологически у 8 (88,9 %) пациентов опухоль имела строение аденокарциномы, и только в 1 случае был плоскоклеточный рак. Мутация METex14 наблюдалась у больных с метастатическим опухолевым процессом. Согласно результатам медицинской визуализации отмечались мультифокальные

метастазы, включая головной мозг и надпочечники. Пациенты с мутациями METex14 имеют худший прогноз по сравнению с другими драйверными мутациями. Применение ингибиторов тирозинкиназы у больных НМРЛ с редкими молекулярными мутациями позволяет значительно увеличить общую продолжительность жизни.

**Заключение.** Делеция экзона 14 гена *MET* является редкой мутацией при метастатическом НМРЛ и аденокарциноме легкого, составляя 4,3 %. Отмечается преобладание ее у лиц мужского пола (88,9 %) и в старшей возрастной группе (при медиане возраста 71,6 года). Мутации гена *MET* являются оптимальным биомаркером для выявления лиц, подлежащих таргетной терапии, обеспечивая целенаправленную, персонализированную терапию больных метастатическим НМРЛ.

## **BRAF-мутации при метастатическом немелкоклеточном раке легкого: клиническая реальность**

Н.А. Огнерубов

ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия  
непрерывного профессионального образования»  
Минздрава России, Москва  
e-mail: ognerubov\_n.a@mail.ru

**Цель исследования** — изучить ландшафт мутаций в гене *BRAF* при метастатическом НМРЛ в реальной клинической практике.

**Материалы и методы.** Исследование является ретроспективным. С июля 2021 г. по июль 2024 г. молекулярно-генетические исследования проведены у 403 больных НМРЛ I–IV стадий. Медиана возраста — 62,3 года, диапазон — 42–81 год. Мужчин было 74 %, женщин — 26 %. Гистологически аденокарцинома была у 84 % пациентов, в 6 % — плоскоклеточный рак. Молекулярно-генетическая диагностика проводилась с использованием образцов опухолевой ткани с парафиновых срезов.

**Результаты.** Различные драйверные мутации в исследуемой когорте обнаружены у 208 (51,6 %) пациентов. Согласно полученным данным соматические мутации в гене *BRAF* были выявлены у 12 пациентов (5,8 %) с метастатическим НМРЛ. Аденокарцинома обнаружена в 11 случаях, в 1 — плоскоклеточный рак. Возрастной диапазон составил 59–76 лет, медиана — 65,1 года. Несколько чаще мутации в гене *BRAF* выявлены у мужчин — 7 (58,3 %) больных, и у 5 (41,7 %) женщин; соотношение составило 1,6:1. Первичная опухоль располагалась в главных бронхах, верхней, средней и нижних долях с одинаковой частотой — 25 %. Мутации *BRAF* в опухоли гетерогенны и представлены 3 классами. Наиболее распространенной является точечная мутация T1799A с заменой аминокислот в кодоне 600 (V600E) — мутации 1-го класса. Они были

выявлены у 9 (75 %) пациентов, из них у 6 (66,7 %) мужчин и у 3 (33,3 %) женщин. Мутации, отличные от V600E, — 2-го класса, D594H и K601E обнаружены только у 2 пациентов мужского пола. Одиночная мутация III класса, A598-T599insV, наблюдалась у пациентки 71 года с множественной метастатической аденокарциномой легкого.

В опухоли определена экспрессия лиганда программируемой клеточной смерти PD-L1. Высокий уровень PD-L1 выявлен у 6 больных (50 %), средний — у 3 (25 %) и низкий уровень — также у 3 (25 %). Известно, что ингибиторы *BRAF*-мутаций 1-го класса обеспечивают значительный успех в прецизионной терапии НМРЛ.

**Заключение.** Согласно полученным данным мутации в гене *BRAF* встречаются у 5,8 % пациентов с метастатической аденокарциномой легкого с преобладанием у лиц мужского пола в возрасте старше 65 лет. Мутации 1-го класса V600E являются доминирующими при НМРЛ, составляя 75 %. Идентификация мутаций *BRAF* позволяет усовершенствовать известные и разрабатывать новые, более эффективные, целевые терапевтические подходы у больных НМРЛ.

## **Изучение уровня экспрессии ремодулирующих факторов в популяциях макрофагов, дифференцированных из мононуклеарных клеток периферической крови *in vitro***

М.Н. Осинникова, Ю.П. Маясин, К.В. Китаева,  
И.Ю. Филин, В.В. Соловьева, А.А. Ризванов

Институт фундаментальной медицины и биологии  
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный  
университет», Казань  
e-mail: osinnikova.2003@gmail.com

**Введение.** Одним из наиболее важных компонентов ремоделинга опухолевого микроокружения являются опухоль-ассоциированные макрофаги, которые способствуют росту злокачественных новообразований *in vivo*. Они относятся к смешанной группе, в которой выделяют множество подтипов, среди которых доминантной является популяция M2-макрофагов, каноническим маркером которой признан маннозный рецептор CD206. У макрофагов типа M2 увеличивается экспрессия матриксной металлопротеиназы 9 (MMP9), которая вовлечена в ремоделирование матрикса, ангиогенез и васкуляризацию. Также согласно данным литературы повышенная экспрессия сигнального белка signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) обеспечивает дифференцировку, пролиферацию, ангиогенез и функциональную регуляцию клеток иммунной системы.

**Цель исследования** — сравнение уровня экспрессии CD206, MMP9 и STAT3 между популяциями макро-

фагов (M0, M1, M2), дифференцированных из мононуклеарных клеток периферической крови *in vitro*.

**Материалы и методы.** Мононуклеарные клетки периферической крови человека изолировали из цельной крови в градиенте плотности фиколла. Дифференцировка производилась из CD14<sup>+</sup>-моноцитов с добавлением GM-CSF (популяция M0), интерферона  $\gamma$  (ИФН- $\gamma$ ), LPS (популяция M1), интерлейкина (IL) 4 и трансформирующего фактора роста  $\beta$  (TGF $\beta$ ) (популяция M2). Экспрессию оценивали методом лазерной конфокальной микроскопии и вестерн-блот-анализа.

**Результаты.** Методом лазерной конфокальной микроскопии в образце M2-поляризованных макрофагов была показана экспрессия CD206, показатель средней интенсивности флюоресценции равен 7,5, экспрессия в популяциях M1/M0 с помощью данной методики не обнаруживалась. Также экспрессия CD206 была подтверждена методом вестерн-блот-анализа: в популяции M2-макрофагов она была выше на 86 и 53 % по сравнению с популяциями M0 и M1 соответственно. Также методом вестерн-блот была подтверждена экспрессия факторов MMP9 и STAT3. Экспрессия MMP9 была выше в популяции M2 на 50 и 61 % по сравнению с группами M0 и M1 соответственно. Экспрессия STAT3 была выше в популяции M2 на 75 и 79 % соответственно.

**Заключение.** Полученные данные показывают, что этот протокол дифференцировки мононуклеарных клеток периферической крови человека подходит для создания 3 различных субпопуляций макрофагов — M0, M1 и M2. Также было показано, что полученные M2-макрофаги имеют ремоделирующий потенциал и индуцируют транскрипцию факторов роста, что является ключевым параметром для дальнейшего изучения межклеточных взаимодействий, механизмов опухолевого ангиогенеза и метастазирования в условиях 3D-культивирования *in vitro*.

### Изменение туморогенных свойств клеток рака легкого A549 при заражении микоплазмами *M. arginini* и *M. salivarium*

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

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

**Введение.** В большинстве случаев микоплазмы существуют как комменсалы со своими хозяевами, не причиняя им вреда, но в ряде случаев заражение микоплазмами может приводить к различным заболеваниям, в том числе злокачественным новообразованиям. На данный момент механизмы, с помощью которых микоплазмы стимулируют канцерогенез, недостаточно хорошо изучены.

**Цель исследования** — оценка влияния микоплазм *M. arginini* и *M. salivarium* на онкогенные свойства клеток аденокарциномы легкого A549.

**Результаты.** Нами было установлено, что *M. arginini* и *M. salivarium* подавляют основной опухолевый супрессор p53 через классический путь NF- $\kappa$ B. Известно, что p53 является ключевым регулятором процесса ЭМП, осуществляющим свои функции через регуляцию экспрессии микроРНК. Мы показали, что подавление фактора p53 в результате инфицирования приводит к повышению уровня ZEB1 — основного регулятора ЭМП. Это, в свою очередь, способствует активации экспрессии мезенхимальных и снижению уровня эпителиальных маркеров, что свидетельствует о запуске ЭМП в инфицированных клетках линии A549. Мы также продемонстрировали увеличение миграционного потенциала и снижение скорости пролиферации клеток после заражения микоплазмами, что характерно для ЭМП. При этом происходило уменьшение G2-M-фаз клеточного цикла за счет ареста клеток в фазе G1 фазе и наблюдалось ингибирование циклинов D1 и E. Важно отметить, что остановка клеточного цикла в фазе G1 способствовала приобретению устойчивости инфицированных микоплазмой клеток к действию генотоксического препарата этопозид.

**Заключение.** Таким образом, мы продемонстрировали, что микоплазменная инфекция клеток РЛ приводит к подавлению онкосупрессора p53, активации ЭМП и формированию резистентности к генотоксической терапии, что вызывает повышение онкогенного потенциала клеток-хозяев.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ  
(грант № 24-25-00161).

### Модель для изучения устойчивости клеток колоректального рака к цитотоксической активности макрофагов

П. А. Подлесная, О. В. Ковалева, Е. С. Кудинова,  
О. С. Малашенко, М. А. Рашидова, А. Н. Грачев

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

**Введение.** Иммуноterapia произвела революцию в лечении онкологических заболеваний и определила важность микроокружения опухоли в прогрессии злокачественного новообразования. Макрофаги составляют превалирующую популяцию опухоли-ассоциированных ИК. Долгое время считалось, что в контексте опухоли макрофаги провоспалительного фенотипа способствуют ее уничтожению, в то время как иммуносупрессорные обладают проопухолевыми функциями.

ями. Однако разработанные тактики лечения, направленные на активацию цитотоксической активности макрофагов, ассоциированных с опухолью, не получили широкого распространения ввиду низкой эффективности. Данный факт свидетельствует в пользу того, что роль цитотоксических макрофагов (M1) в опухолевой прогрессии на данный момент не определена.

**Цель исследования** — разработка модели *in vitro* для изучения устойчивости клеток КРР к цитотоксической активности макрофагов.

**Материалы и методы.** В качестве экспериментальной модели была использована клеточная линия КРР (SW620). M1 получали путем дифференцировки клеток миелоидного происхождения линии ТНР-1 при помощи реакции макроагглютинации, ИФН- $\gamma$  и патоген-ассоциированных молекул (LPS, MDP). Опухолевые клетки сокультивировали с M1 напрямую в смешанной культуре. Эксперимент состоял из 3 последовательных раундов отбора, во время которых опухолевые клетки последовательно сокультивировали с вновь дифференцированными ТНР-1. Устойчивость и кросс-устойчивость полученных сублиний опухолевых клеток к цитотоксической активности определяли путем оценки их жизнеспособности относительно контрольных линий опухолевых клеток, не проходивших отбор.

**Результаты.** Создана и отработана уникальная клеточная модель, позволяющая в условиях *in vitro* получать сублинии опухолевых клеток КРР, устойчивых к цитотоксической активности макрофагов. Показано, что макрофаги, полученные в результате TLR4-опосредованной активации, обладают более высокой цитотоксической активностью по сравнению с макрофагами, активированными посредством рецептора NOD2. Вместе с тем полученные сублинии опухолевых клеток характеризовались кросс-устойчивостью к цитотоксической активности макрофагов, обусловленной как активацией рецептора TLR4, так и NOD2. По сравнению с уже описанными подходами отличительной особенностью разработанной модели является длительная экспозиция опухолевых клеток с цитотоксическими макрофагами, что сопоставимо с процессами опухолевой прогрессии *in vivo*.

**Заключение.** Впервые получены сублинии опухолевых клеток КРР, устойчивые к цитотоксической активности макрофагов. Они характеризовались кросс-устойчивостью к цитотоксической активности макрофагов, активируемой различными механизмами.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ  
(грант № 24-15-00356).

## Изучение воздействия ингибиторов метаболизма в клетках рака молочной железы MCF-7 и MDA-MB-231 при изменении уровня ZEB1

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

ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург  
e-mail: anna.popovich9811@gmail.com

**Введение.** ЭМП играет критическую роль в метастазировании раковых клеток. Одним из основных регуляторов является транскрипционный фактор ZEB1, который также может выполнять функцию ключевого регулятора метаболического перепрограммирования при РМЖ.

**Цель исследования** — изучение влияния применяемых в терапии ингибиторов метаболизма, таких как 2-дезоксиглюкоза, лонидамин и венетоклакс, на онкогенные свойства клеток в зависимости от уровня экспрессии гена *Zeb1*.

**Материалы и методы.** В работе использовали клеточные линии РМЖ MCF-7 с доксициклинзависимой индукцией экспрессии *Zeb1* — MCF-7-Zeb1-tet-ON, а также линии MDA-MB-231-shZeb1 и MDA-MB-231KOZeb1 с нокаутом и нокдауном гена *Zeb1*. Применяли wound-healing assay, crystal violet viability assay — анализ на заживление ран, метод окрашивания красителем кристаллическим фиолетовым, микроскопию, проточную цитофлуориметрию.

**Результаты.** При оценке выживаемости клеток было показано, что используемые в данной работе вещества оказывали более негативное действие на клетки линии MCF-7-Zeb1-tet-ON в отсутствие ZEB1. Однако на линии MDA-MB-231-shZeb1 снижение ZEB1 приводило к большей устойчивости к ингибиторам метаболизма. Также было показано, что более высокий уровень ZEB1 отрицательно влияет на скорость пролиферации клеток обеих линий. Ингибиторы метаболизма замедляют скорость пролиферации, но в MCF-7-Zeb1-tet-ON повышение уровня ZEB1 уменьшает их влияние, а в MDA-MB-231-shZeb1, наоборот, увеличивает. В MCF-7 индукция ZEB1 повышала в несколько раз скорость миграции клеток, ингибиторы противодействовали влиянию ZEB1. Клетки с пониженным уровнем ZEB1, MDA-MB-231-shZeb1 и MDA-MB-231KOZeb1 двигались медленнее, чем контрольные. Действие ингибиторов метаболизма, выраженное в снижении миграционного потенциала, проявлялось сильнее при нормальном уровне ZEB1, чем при пониженном.

**Заключение.** В клетках линии MCF-7-Zeb1-tet-ON ZEB1 приводит к увеличению миграционного потенциала и снижению чувствительности к ингибиторам метаболизма, однако ZEB1 в клетках MDA-MB-231 вызывает обратный эффект. Мы предполагаем, что в MDA-MB-231 задействован некий кофактор,



который меняет действие ZEB1 на противоположное для ряда мишеней.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 24-25-00161).*

## Противоположное влияние мастер-регулятора эпителиально-мезенхимального перехода Zeb1 на экспрессию гена *ccl2* в зависимости от эпителиально-мезенхимного статуса клеточных линий рака молочной железы

О.М. Семенов, А.А. Дакс, О.Ю. Шувалов, Н.А. Барлев  
ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург  
e-mail: semyonov.somspb@yandex.ru

**Введение.** Zeb1 — транскрипционный фактор, регулирующий эпителиально-мезенхимную пластичность, лежащую в основе процесса метастазирования злокачественных опухолей. Раковые клетки могут уходить от цитотоксического иммунного ответа, привлекая моноциты крови с помощью хемокина CCL2. Моноциты, дифференцируясь в макрофаги, выделяют цитокины, поддерживающие проопухолевое микроокружение. Определение роли Zeb1 во взаимодействии раковых и иммунных клеток позволит улучшить методы противоопухолевой иммунотерапии.

**Цель исследования** — определение характера влияния Zeb1 на индуцируемую под воздействием цитокинов экспрессию гена *ccl2* в клетках РМЖ.

**Материалы и методы.** Были использованы клеточные линии РМЖ человека люминального типа А, MCF-7 с индуцированной экспрессией гена *zeb1*, а также клетки РМЖ трижды негативного субтипа, MDA-MB-231, с нокдауном гена *zeb1*. Клетки обрабатывали с помощью IL-1β, фактора некроза опухоли α (TNFα), ИФН-γ, TGFβ, после чего производилось сравнение уровня экспрессии гена *ccl2* методом ПЦР-РВ. Содержание хемокина в кондиционной среде обработанных цитокинами клеток исследовалось с помощью иммуоферментного анализа. Помимо этого, с помощью программного обеспечения MEME suite был проведен анализ регуляторных элементов гена *ccl2* на наличие мотивов, распознающихся Zeb1.

**Результаты.** Среди исследованных цитокинов TNFα значительно активировал экспрессию *ccl2* в обеих линиях клеток. Позитивный статус *zeb1* в MCF-7 усиливал эффект TNFα. В противоположность для MDA-MB-231 повышение экспрессии *ccl2* наблюдалось при нокдауне *zeb1*, в том числе после обработки TNFα. Результаты анализа структуры гена *ccl2* выявили наличие промоторных и энхансерных элементов, обогащенных мотивами, распознаваемыми Zeb1.

**Заключение.** Противоположная регуляция экспрессии *ccl2* с помощью Zeb1 в MCF-7 и MDA-MB-231 может осуществляться на транскрипционном уровне. Сохранение эффекта Zeb1 при воздействии TNFα говорит о влиянии эпителиально-мезенхимной пластичности на формирование положительной обратной связи между опухолевыми клетками и макрофагами.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 21-75-10103).*

## Особенности PD-L1 экспрессии (клон PDCD1LG1) в паренхиме и строме опухоли и ее связь с клинико-морфологическими характеристиками рака молочной железы

М.А. Сеньчукова<sup>1,2</sup>, Н.В. Сайдлер<sup>2</sup>, Е.Ю. Зубарева<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>ГАУЗ «Оренбургский областной клинический онкологический диспансер», Оренбург  
e-mail: masenchukova@yandex.ru

**Цель исследования** — изучить особенности экспрессии нового маркера PD-L1 (клон PDCD1LG1) и ее корреляции с клинико-патологическими характеристиками РМЖ.

**Материалы и методы.** 148 пациенток с впервые выявленным первично-операбельным РМЖ были включены в проспективное когортное исследование. Пациенткам были выполнены радикальные операции (R0). Для оценки экспрессии PD-L1 в ткани опухоли гистопрепараты окрашивали ИГХ-антителами к PDCD1LG1. Выраженность экспрессии *PDCD1LG1* в цитоплазме опухолевых клеток оценивали как выраженную (все опухолевые клетки экспрессируют маркер или экспрессия маркера отсутствует только по инвазивному краю) или слабовыраженную (экспрессия маркера отсутствует как по краю, так и в центральной части опухоли). ОП PDCD1LG1+ иммунных клеток оценивали как низкую (<3,0), среднюю (3,0–4,9) и высокую (>5,0). Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения Statistica 12.0.

**Результаты.** Установлено, что при слабовыраженной цитоплазматической экспрессии *PDCD1LG1* достоверно чаще, чем при выраженной, выявляются опухоли G3 ( $p < 0,00001$ ) с негативным статусом рецепторов к эстрогенам ( $p = 0,035$ ), HER22+ и HER23+ статусом ( $p = 0,0006$ ), а также люминальный В HER2-позитивный, нелюминальный HER2 позитивный и тройной негативный подтипы РМЖ. Индекс Ki-67 был достоверно выше при слабовыраженной цитоплазматической экспрессии PDCD1LG1 ( $p = 0,000075$ ), чем при выраженной, высокой, средней PDCD1LG1+ ИК и низкой ОП ( $p = 0,0025$ ).

**Заключение.** Отсутствие цитоплазматической экспрессии PDCD1LG1 в опухолевых клетках как по краю, так и в центральной части опухоли связано с более агрессивными характеристиками РМЖ.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 23-25-00183).*

### Оценка взаимосвязи специализированных проразрешающих медиаторов и адипокинов с дисметаболическими нарушениями при раке эндометрия

Е.Е. Середа<sup>1,2</sup>, Т.Ю. Мамонова<sup>1</sup>, В.Н. Рыжков<sup>2</sup>,  
М.О. Очиров, Г.В. Какурина<sup>1,2</sup>, Е.А. Сиденко<sup>1,2</sup>,  
Д.А. Коршунов<sup>1</sup>, Л.А. Коломиец<sup>1,2</sup>, И.В. Кондакова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск;  
<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Томск  
e-mail: shashova7ssmu@gmail.com

**Введение.** Важным условием течения опухолевого процесса является дисбаланс эндогенных провоспалительных и противовоспалительных медиаторов. Одними из медиаторов, регулирующих воспалительные реакции, являются адипокины, продуцируемые жировой тканью. Противовоспалительное действие показано для метаболитов свободных жирных кислот — специализированных проразрешающих медиаторов (СпРМ). Вероятно, ингибирование синтеза СпРМ может участвовать в регуляции перехода хронического низкоинтенсивного воспаления рак и в утяжелении течения опухолевого процесса.

**Цель исследования** — изучение взаимосвязи СпРМ и адипокинов с дисметаболическими нарушениями при раке эндометрия (РЭ).

**Материалы и методы.** В исследование были включены 40 человек, из них 30 больных РЭ (эндометриоидная аденокарцинома I—II стадии). Эта группа больных была разделена на 2 подгруппы: 20 пациенток с дисметаболическими нарушениями (ожирение I—II стадии в сочетании с нарушениями углеводного и/или липидного обмена) и 10 больных РЭ без сочетанных дисметаболических нарушений. Группу сравнения составили 10 практически здоровых волонтеров без онкологической патологии и дисметаболических нарушений. В работе оценивались уровень адипокинов (адипонектин и висфатин), а также СпРМ (маресин 1 и протектин) в сыворотке крови. Исследование проводилось методом ELISA. Дисметаболические нарушения ставились на основе показателей углеводного обмена (глюкоза, оценка НОМА-IR), липидного обмена (холестерин, липопротеины высокой и низкой плотности, триглицериды) и степени ожирения, оцениваемой по индексу массы тела.

**Результаты.** При РЭ в сыворотке крови имеется статистически значимое увеличение содержания адипокинов (висфатина — в 1,4 раза, адипонектина — в 1,32 раза), а также уровня СпРМ протектина в 2,6 раза по сравнению с группой практически здоровых волонтеров без дисметаболических нарушений ( $p < 0,05$ ). При РЭ в сочетании с последними выявлены снижение в 1,7 раза уровня протектина, и потеря корреляционных взаимосвязей между изучаемыми адипокинами, СпРМ, показателями углеводного и липидного обмена.

**Заключение.** В работе продемонстрирована потеря взаимосвязи адипокинов и СпРМ при РЭ, протекающем на фоне дисметаболических нарушений. Выявленный феномен нуждается в более углубленном изучении для решения вопроса о возможных механизмах его реализации.

### Изменения в экспрессии генов, регулирующих клеточный ответ на гипоксию и воспаление, при экспериментальном колит-ассоциированном колоректальном раке в зависимости от исходной устойчивости организмов к недостатку кислорода

М.В. Силина, Д.Ш. Джалилова, О.В. Макарова  
ФГБНУ «НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына»  
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», Москва  
e-mail: marusyasilina99@yandex.ru

**Введение.** Одним из факторов развития колит-ассоциированного КРР является воспаление, которое во многом связано с гипоксией. Известно, что ключевую роль при этом играют NF-κB и связанные с ним сигнальные пути, в том числе активация транскрипционных факторов семейства NF-κB, регулирующих ответ на недостаток кислорода. Ранее нами было показано, что у низкоустойчивых к гипоксии мышей как острый, так и хронический колит, индуцированный декстраном сульфата натрия, протекают тяжелее по сравнению с высокоустойчивыми.

**Цель исследования** — изучить особенности экспрессии генов, участвующих в ответе организма на гипоксию и воспаление, у мышей с разной устойчивостью к гипоксии при колит-ассоциированном КРР.

**Материалы и методы.** Исследование выполнено на самцах мышей линии C57Bl/6 (возраст 1,5–2 мес, масса 20–22 г,  $n = 70$ ). Устойчивость к гипоксии определяли однократно в барокамере путем создания в ней условий, эквивалентных критической высоте 10 000 м, по времени жизни до принятия бокового положения. Далее животные были разделены на 2 группы — высокоустойчивых по времени жизни  $>10$  мин ( $n = 22$ )

и низкоустойчивых по времени жизни  $<3$  мин ( $n = 15$ ). Через месяц животным опытных групп, высокоустойчивым ( $n = 17$ ) и низкоустойчивым ( $n = 10$ ), однократно внутрибрюшинно вводили азоксиметан (10 мг/кг), после чего они перорально потребляли раствор 1 % декстрана сульфата натрия в течение 7 дней, воду — 14 дней; 0,5 % декстрана сульфата натрия — 7 дней, воду — 14 дней; 0,5 % декстрана сульфата натрия — 5 дней и воду до конца эксперимента. Мышам контрольных групп, высокоустойчивым ( $n = 5$ ) и низкоустойчивым ( $n = 5$ ), внутрибрюшинно вводили физиологический раствор, после чего они потребляли только воду. На 141-е сутки животных выводили из эксперимента, забирали ободочную кишку для проведения морфологического исследования и фрагменты опухоли для определения уровней экспрессии генов *Hif1a*, *Epas1*, *Hif3a*, *Vegf*, *Nfkb*, *Il1b*, *Il6*, *Tnfa* и *Il10* методом ПЦР-РВ.

**Результаты.** При микроскопическом исследовании в дистальном отделе ободочной кишки опухоли были выявлены у 41 % высокоустойчивых (преимущественно железистая интраэпителиальная неоплазия) и у 80 % низкоустойчивых (аденокарциномы) к гипоксии мышей, при этом частота развития и площади опухолей были выше у низкоустойчивых животных. Более высокие уровни экспрессии генов *Hif3a*, *Vegf*, *Tnfa*, *Il10* и *Tgfb* обнаружены в тканях опухоли у низкоустойчивых животных по сравнению с высокоустойчивыми.

**Закключение.** Таким образом, при колит-ассоциированном КРР у низкоустойчивых к гипоксии мышей изменения в экспрессии генов, регулирующих клеточный ответ на недостаток кислорода и воспаление, более выражены, что свидетельствует о более тяжелом течении и менее благоприятном прогнозе по сравнению с высокоустойчивыми.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 23-25-00294).*

## Особенности ремоделирования микроокружения меланомы кожи после введения препаратов, модулирующих аутофагию

Ю.С. Таскаева, А.Ю. Шатрук, Н.П. Бгатова

НИИ клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск  
e-mail: inabrite@yandex.ru

**Введение.** Несмотря на достигнутые успехи в развитии иммунотерапии меланомы, новые стратегии лечения, основанные на биологии опухоли, имеют решающее значение для улучшения результатов терапии. Известно, что аутофагия играет важную роль в метаболизме клеток меланомы и влияет на микроокружение опухоли. Сложные контекстзависимые взаимо-

отношения между аутофагией и микроокружением требуют тщательного исследования влияния аутофагии на микроокружение меланомы кожи.

**Цель исследования** — оценка влияния препаратов, модифицирующих аутофагию, на ремоделирование компонентов микроокружения меланомы кожи.

**Материалы и методы.** В эксперименте использовали клеточную линию меланомы кожи B16 и самцов мышей линии C57BL/6. Для оценки влияния препаратов, модулирующих аутофагию (лития карбонат и хлорохин), проводили ИГХ-окрашивание срезов опухоли на маркеры белков деградации внеклеточного матрикса и их основных субстратов, а также лизилоксидазу и белки, связанные с образованием коллагеновых фибрилл.

**Результаты.** Введение хлорохина и лития вызывало снижение экспрессии матриксных металлопротеиназ, а хлорохин способствовал накоплению коллагена 1-го типа и снижению уровней лизилоксидазы. Экспрессия декорина была снижена в опухолях мышей, получавших как хлорохин, так и литий.

**Закключение.** Полученные результаты свидетельствуют о том, что препараты, модулирующие аутофагию, влияют на микроокружение опухоли, в частности, хлорохин способствует его ремоделированию, накоплению отложений коллагена 1-го типа и, возможно, формированию аномальных структур коллагеновых фибрилл. Поскольку известно, что коллаген 1-го типа влияет на формирование иммуносупрессивной среды в опухолях, можно предположить, что высокая плотность и измененная структура коллагена в микроокружении опухоли, вызванные хлорохином, могут подавлять иммунные ответы и снижать эффективность иммунотерапии. Кроме того, полученные данные могут частично объяснять противоречивые результаты исследований хлорохина как противоопухолевого средства из-за его способности к ремоделированию микроокружения опухоли. Таким образом, эффекты хлорохина в комбинированной химиотерапии заслуживают дальнейшего изучения.

## Морфологические изменения в печени мышей при введении препаратов, модулирующих аутофагию

Е.А. Тельпуховская, М.А. Карпов

НИИ клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск  
e-mail: katetelpukhovsky@gmail.com

**Введение.** В настоящее время развитие терапии различных злокачественных новообразований является одной из важнейших задач современной науки и медицины. Известно, что аутофагия играет важную роль в метаболизме клеток меланомы. Влияние опухолево-

го роста на структуру внутренних органов недостаточно хорошо изучено.

**Цель исследования** — оценка влияния препаратов, модифицирующих аутофагию, на ремоделирование стромы и паренхимы отдаленных органов при меланоме, в частности печени.

**Материалы и методы.** В эксперименте использовали клеточную линию меланомы кожи B16 и самцов мышей линии C57BL/6 ( $n = 41$ ). Опухолевый рост меланомы воспроизводили в пахово-бедренной области у мышей. Мышей разделили на 4 группы: 1 — интактные животные; 2 — животные, получавшие лития карбонат; 3 — мыши с опухолевым ростом меланомы; 4 — животные с опухолевым ростом меланомы, получавшие лития карбонат. Материал для исследования забирали на 7-е сутки эксперимента. Изготавливали гистологические срезы печени, окрашивали гематоксилином и эозином. Стандартными методами производили морфометрию структур: измеряли численную (Nai) и объемную (Vv) плотность сосудов, дистрофически измененные и некротизированные гепатоциты.

**Результаты.** При сравнении численной плотности капилляров величина показателя увеличивалась в группе с опухолевым ростом меланомы (3-я группа,  $Nai = 6,33 \pm 0,16$ ) по сравнению с интактными особями (1-я группа,  $Nai = 5,13 \pm 0,13$  ( $p = 0,000001$ )) и значительно увеличивалась после введения лития мышам 4-й группы с опухолевым ростом меланомы  $Nai = 0,76 \pm 0,22$  ( $p = 0,000001$ ). По результатам сравнения обеих групп, получавших литий (2-я и 4-я группы), численная и объемная плотность капилляров преобладала у животных 4-й группы с моделированной меланомой ( $p = 0,000002$ ).

При исследовании некротических изменений выявлено, что наибольшее значение получено в группе особей с вызванной меланомой без лечения ( $Nai = 5,09 \pm 0,15$ ,  $Vv = 22,02 \pm 0,88$ ). В печени 2-й группы животных, получавших литий без опухолевого роста ( $Nai = 3,82 \pm 0,16$ ;  $Vv = 7,59 \pm 0,95$ ), и 4-й группы с моделированной меланомой ( $Nai = 3,37 \pm 0,13$ ;  $Vv = 14,04 \pm 0,67$ ) численная плотность некротизированных гепатоцитов оказалась значительно снижена по сравнению с изменениями в печени животных 3-й группы, не получавших литий ( $p = 0,000001$ ).

**Закключение.** При воздействии карбоната лития в условиях отдаленного роста меланомы в печени мышей увеличивалось количество сосудов капиллярного типа, вероятно, обуславливая меньшую выраженность деструктивных изменений (объемную плотность некрозов) гепатоцитов.

## Гибридные опухолевые клетки при немелкоклеточном раке легкого: связь с метастазированием

М.С. Третьякова, А.А. Хозяинова, М.Е. Меньяло, У.А. Бокова, А.А. Коробейникова, Т.С. Геращенко, Е.О. Родионов, С.В. Миллер, Е.В. Денисов

НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск  
e-mail: trremar@mail.ru

**Введение.** НМРЛ является наиболее распространенной причиной смертности от злокачественных новообразований ввиду высокой частоты метастазирования и рецидивирования. Предполагается, что метастазирование может быть реализовано за счет слияния опухолевых клеток с другими клетками, что приводит к образованию гибридных клеток с новыми свойствами, такими как повышенная пролиферация и миграция, устойчивость к лекарственным препаратам и ускользание от иммунного надзора.

**Цель исследования** — охарактеризовать популяционный состав опухолевых гибридных клеток (ОГК) при НМРЛ и его ассоциацию с метастазированием.

**Материалы и методы.** Исследование выполнено на опухолевом материале 50 больных НМРЛ, получавших лечение в НИИ онкологии Томского научно-исследовательского медицинского центра. Опухоль подвергалась механической диссоциации для получения гомогенной клеточной суспензии, далее клетки окрашивали коктейлем моноклональных антител, меченных флюорохромами. Для детекции ОГК методом многоцветной проточной цитометрии на аппарате CytoFLEX использовали панель родительских маркеров к опухолевым и нормальным клеткам.

**Результаты.** Мажорная часть детектируемых ОГК в опухоли легкого представлена клетками с лейкоцитарными, макрофагальными и стволовыми признаками. Наличие в опухоли гибридных клеток с признаками стволовости и лейкоцитами (фенотип  $pan-CK^+CD73^+CD45^+$ ), а также клеток, несущих маркеры стволовости и макрофагов ( $ErCAM^+CD45^+CD44^+CD73^+CD163^+$ ), связано с высокой частотой гематогенного метастазирования НМРЛ. Напротив, у пациентов без гематогенных метастазов наблюдалось увеличение числа ОГК, несущих маркеры стволовости и фибробластов ( $pan-CK^+CD45^-CD44^+S100A4^+$ ).

**Закключение.** ОГК при НМРЛ представлены различными субпопуляциями и ассоциированы с гематогенным метастазированием.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 22-75-00120).



## Состояние Т-клеточного звена иммунной системы как предиктивный фактор эффективности химиотерапии рака молочной железы

А.А. Федоренко<sup>1,2</sup>, М.Р. Патышева<sup>1</sup>, А.П. Филатова<sup>1</sup>,  
А.А. Федоров<sup>1</sup>, М.А. Вострикова<sup>1</sup>, Т.С. Герашенко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск  
e-mail: aafedorenko@onco.tnimc.ru

**Введение.** Несостоятельность иммунного ответа является одним из факторов, ограничивающих эффективность неoadъювантной химиотерапии (НХТ) у больных тройным негативным РМЖ. Известно, что реализация специфического иммунного ответа в наибольшей степени зависит от функциональной активности Т-лимфоцитов. Изучение состояния Т-клеточного звена иммунитета в контексте формирования противоопухолевого иммунного ответа при НХТ необходимо для разработки критериев выбора наиболее эффективной тактики лечения.

**Цель исследования** — охарактеризовать фенотипические и функциональные особенности субпопуляций Т-лимфоцитов у больных тройным негативным РМЖ с разной эффективностью НХТ.

**Материалы и методы.** Мононуклеарные клетки периферической крови были получены от 30 больных тройным негативным РМЖ в динамике терапии: до лечения, на 3-й и 21-е сут после проведения 1-го курса НХТ по схеме AC. Эффективность НХТ оценивалась по шкале RECIST, критерии которой легли в основу деления пациентов на 2 группы: с полным и частичным ответами. Функциональная аннотация иммунных популяций проводилась с помощью РНК-секвенирования единичных клеток  $\times 10$  (Genomics, США). Валидация проводилась методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител: CD3-PerCP/Cy5.5, CD4-PE, CD8-APC/Cy7, CD45RA-BV510, CD45RO-APC, CD62L-AF488 (Sony Biotechnology, Япония).

**Результаты.** После 1-го курса НХТ у пациентов с полным ответом увеличивалось количество цитотоксических Т-лимфоцитов и Т-хелперов 1-го типа, высоко экспрессирующих гены активации *CD69*, *ICOS* и *CD40*. Напротив, для пациентов с частичным ответом было характерно снижение количества эффекторных  $CD4^+$ - и  $CD8^+$ -популяций Т-лимфоцитов, характеризующихся низкой экспрессией генов активации *CD69*, *ICOS* и *CD40* и высокой экспрессией маркеров истощения *LAG3* и *PDCD1*.

Субпопуляционный состав Т-лимфоцитов у пациентов с полным ответом на НХТ характеризовался увеличением эффекторных популяций Т-лимфоцитов по сравнению с пациентами с частичным ответом:

$CD3^+CD4^+CD45RO^-CD45RA^+CD62L^-$  Т-хелперов — в 1,8 раза (94,2 % против 51,2 %;  $p = 0,051$ );  $CD3^+CD8^+CD45RO^-CD45RA^+CD62L^-$  цитотоксических Т-лимфоцитов — в 1,4 раза (91,1 % против 65,9 %;  $p = 0,030$ ). Частичный ответ был ассоциирован с увеличением наивных Т-хелперов ( $CD3^+CD4^+CD45RO^-CD45RA^+CD62L^+$ ) в 8,5 раза (48,7 % против 5,7 %;  $p = 0,051$ ) и Т-хелперов центральной памяти ( $CD3^+CD4^+CD45RA^-CD45RO^+CD62L^+$ ) в 5 раз (36,8 % против 7,3 %,  $p = 0,015$ ) по сравнению с группой с полным ответом на НХТ.

**Заключение.** Полный ответ на НХТ ассоциирован с увеличением функционально активных эффекторных популяций Т-лимфоцитов — цитотоксических Т-лимфоцитов и Th1.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 22-75-10128).

## Функциональные закономерности организации интерактома шаперона Hsp70 в клетках злокачественных опухолей головного мозга

В.С. Федоров<sup>1-3</sup>, Ю.В. Колесниченко<sup>1</sup>, Р.Б. Лихоманова<sup>1,2</sup>,  
В.Д. Канева<sup>4</sup>, А.А. Кондратенко<sup>4</sup>, Н.М. Юдинцева<sup>1,2</sup>,  
А.С. Нечаева<sup>2</sup>, Р.Х. Зиганшин<sup>5</sup>, М.А. Шевцов<sup>1,2,5</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», Санкт-Петербург;

<sup>4</sup>ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)», Санкт-Петербург;

<sup>5</sup>ГНЦ ФГБУН «Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН», Москва;

<sup>6</sup>Клиника rechts der Isar Технического университета Мюнхена, Мюнхен, Германия

e-mail: fedorovvs.biotech@gmail.com

**Введение.** Злокачественные образования глиального происхождения отличаются гетерогенностью, способностью к инвазии и метастазированию. Белки теплового шока семейства Hsp70 обуславливают процессы, связанные с прогрессией опухолей, а также отличаются способностью к созданию белок-белковых взаимодействий в опухолевых клетках.

**Цель исследования** — выявить функциональные и топологические особенности организации сетей Hsp70 на мембране клеток мультиформной глиобластомы, а также оценить их участие в регуляции клеточной подвижности.

**Материалы и методы.** Образцы интерактома Hsp70 с помощью магнитного осаждения белков на суперпарамагнитных наночастицах выделяли из клеток первичной культуры мультиформной глиобластомы,

полученной из послеоперационного материала (РНХИ им. проф. А.Л. Поленова;  $n = 5$ ), и клеточных линий глиобластомы (ЦКП «Коллекция культур клеток позвоночных» ИНЦ РАН;  $n = 3$ ). Анализ образцов интерактома выполняли с помощью жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии с обработкой в Cytoscape. Для оценки влияния интерактома на подвижность клеток FetMSC использовали систему CQ1 (Yokogawa, Япония) с последующей обработкой в GraphPad Prism.

**Результаты.** В результате анализа белок-белковых взаимодействий были выявлены узлы GAPDH и ANXA1 и показано, что связь между функциональными кластерами осуществлялась через ко-шапероны CDC42 и P4HB. Прямые интеракторы Hsp70 включали прогностические маркеры опухолей (BAG6, ENO2, PNB). Представленными функциями сети являлись регуляция миграции и морфогенез клеток. Экзогенный интерактом оказывал стимулирующее действие на миграционную активность клеток, превышавшее действие лизофосфатидной кислоты.

**Закключение.** Учитывая особенности белок-белковых взаимодействий, можно дополнить данные о роли окружения Hsp70 в прогрессии опухолей центральной нервной системы, а также предложить панель мишеней ингибиторной терапии.

## Активизация энергетического метаболизма в клеточных моделях аденокарциномы легкого с помощью убиквитин-лигазы MDM2

Е.А. Фефилова, О.Ю. Шувалов

ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург  
e-mail: e.fefilova@list.ru

**Введение.** Убиквитин-лигаза MDM2 — главный негативный регулятор p53. Кроме того, MDM2 влияет на стабильность ряда онкосупрессоров и онкогенов. Одной из ключевых характеристик злокачественных клеток различного генезиса является метаболическое перепрограммирование. В данном исследовании мы показали, что MDM2 активирует энергетический метаболизм в клетках аденокарциномы легкого.

**Цель исследования** — изучить влияние убиквитин-лигазы MDM2 на интенсивность гликолиза, дыхания, а также экспрессию ряда метаболических ферментов в клеточных моделях НМРЛ.

**Материалы и методы.** В исследовании использовались клеточные линии НМРЛ — H1299 и A549. Важно отметить, что в линии H1299 наблюдается гомозиготная делеция гена, кодирующего онкосупрессор p53, а клетки A549 характеризуются экспрессией TP53 дикого типа. С помощью лентивирусной трансдукции мы создали линии H1299 и A549, сверхэкспрессирующие нативный белок MDM2, каталитически неактивный

мутант MDM2, а также контрольные клетки. С использованием проточной цитометрии мы оценили мембранный потенциал митохондрий. Измерение уровня гликолиза и дыхания проводили с использованием технологии метаболического профилирования Seahorse, а для оценки влияния MDM2 на экспрессию исследуемых генов использовали ПЦР-РВ, иммуноблоттинг и иммунофлуоресцентную микроскопию.

**Результаты.** Мы выявили, что гиперэкспрессия MDM2 дикого типа способствует увеличению мембранного потенциала митохондрий, интенсификации гликолиза и дыхания, повышению количества ферментов гликолиза (LDHA, Aldoa, PGK1), одноуглеродного метаболизма (SHMT2 и MTHFD2), а также транскрипционного фактора c-Myc на белковом уровне, однако данной тенденции не наблюдалось на уровне РНК.

**Закключение.** Показано, что гиперэкспрессия MDM2 повышает энергетический метаболизм клеточных моделей НМРЛ, причем данный эффект зависит от каталитической активности MDM2, но не зависит от статуса p53. Результаты данного исследования могут быть полезны в контексте противоопухолевой терапии, нацеленной на восстановление функций p53, включая ингибиторы p53-MDM2 взаимодействия.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ  
(грант № 24-45-04002).

## Получение и оценка подвижности высокоинвазивной субпопуляции клеток глиомы крысы С6

Г.К. Фофанов<sup>1</sup>, Р.Б. Лихоманова<sup>1,2</sup>, Н.М. Юдинцева<sup>1,2</sup>,  
Д.Е. Бобков<sup>1,2</sup>, М.А. Шевцов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России,  
Санкт-Петербург;

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург  
e-mail: Fofanovgeorgij@gmail.com

**Введение.** Злокачественные опухоли головного мозга характеризуются высоким миграционным и инвазивным потенциалом, обеспечивающим активное распространение клеток в окружающую здоровую ткань. Изучение характеристик высокоподвижных опухолевых клеток позволит лучше понять механизмы прогрессии новообразования, а также разработать новые подходы для их терапии.

**Цель исследования** — получение и оценка миграционных характеристик высокоинвазивной субпопуляции клеток глиомы крысы С6.

**Материалы и методы.** В качестве модельного объекта использовали immortalized клеточную линию С6 глиомы крысы. Для выделения наиболее мобильной субпопуляции клеток использовали метод Transwell. Одну и ту же группу клеток С6 подвергали многократному хемотаксису (2, 4 и 6 раз) через пористую мембрану. В результате проведения данной селекции по-

лучили 3 субпопуляции — С6Т<sub>w2</sub>, С6Т<sub>w4</sub> и С6Т<sub>w6</sub>. Последующую оценку миграционных характеристик субпопуляций проводили с использованием автоматического прижизненного трекинга, метода Transwell и теста на застывание раны. С помощью проточной цитометрии и конфокальной микроскопии для субпопуляции С6Т<sub>w6</sub> оценили экспрессию белка mHsp70, вовлеченного в процессы клеточной подвижности, и малых ГТФаз Cdc42 и Rac1. В качестве контроля использовали нативную линию С6.

**Результаты.** Результаты автоматического трекинга выявили достоверное возрастание средней скорости движения клеток в ряду С6 < С6Т<sub>w2</sub> < С6Т<sub>w4</sub> < С6Т<sub>w6</sub> (тест Манна–Уитни;  $p < 0,0001$ ), при этом прямизна траектории не изменялась. Полное застывание раны быстрее происходило у субпопуляции С6Т<sub>w6</sub> по сравнению с контрольной группой. По результатам проточной цитометрии и конфокальной микроскопии экспрессия mHsp70 в субпопуляции С6Т<sub>w6</sub> оставалась на прежнем уровне, а характер иммунофлуоресцентного окрашивания Cdc42 и Rac1 изменялся.

**Закключение.** Использование метода Transwell позволяет эффективно выявлять наиболее мобильные субпопуляции опухолевых клеток. Изменение миграционных характеристик и экспрессии белков, вовлеченных в процессы клеточной подвижности, указывает на гетерогенный фенотип опухоли. Ингибирование малых ГТФаз Cdc42 и Rac1, а также участников их сигнальных каскадов является перспективным методом подавления распространения опухоли.

*Работа выполнена при финансовой поддержке  
Министерства науки и высшего образования РФ  
(соглашение № 075-15-2022-301).*

## Анализ влияния экспрессии белков p53-зависимого пути апоптоза на развитие резистентности к химиотерапии в саркомах мягких тканей

С.А. Хазанова<sup>1,2</sup>, Е.С. Трапезникова<sup>1,3</sup>, П.А. Штомпель<sup>1,2</sup>,  
В.Ю. Зиновьева<sup>1</sup>, А.А. Тарарыкова<sup>1</sup>, М.Г. Якубовская<sup>1,2</sup>,  
К.И. Кирсанов<sup>1,2</sup>, Т.И. Фетисов<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов  
им. Патриса Лумумбы», Москва;

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава  
России (Сеченовский Университет), Москва  
e-mail: sonya.haz43@gmail.com

**Введение.** Саркомы мягких тканей (СМТ) представляют собой гетерогенную группу злокачественных новообразований соединительной ткани. Лечение включает хирургическое иссечение опухоли, лучевую

терапию и ХТ. Эффективность ХТ может быть снижена за счет развития лекарственной устойчивости, что приводит к появлению метастазов и рецидивов. Существует несколько путей развития устойчивости к ХТ, одним из которых является изменение клеточного ответа на повреждение ДНК. Ранее в нашем исследовании было показано, что наличие инактивирующих мутаций в генах p53-зависимого пути апоптоза ассоциировано с развитием резистентности.

**Цель исследования** — изучить взаимосвязь между уровнем экспрессии белков p53-зависимого пути апоптоза и развитием резистентности к ХТ в первичных культурах клеток СМТ.

**Материалы и методы.** В работе был проведен анализ резистентности 118 образцов первичных культур СМТ к основным химиотерапевтическим препаратам (доксорубин, ифосфамид, гемцитабин, доцетаксел и пазопаниб) с помощью резазуринового теста. Методом вестерн-блоттинга был проведен анализ активности генов, вовлеченных в p53-зависимый путь апоптоза, на уровне белков PUMA, PMAIP-1, PIDD1, AIFM2, Bax, GADD45a.

**Результаты.** При оценке количества белков в общей группе было выявлено, что образцы с высокой экспрессией, Bax и PUMA, характеризуются резистентностью к гемцитабину. В то же время при анализе отдельных гистотипов СМТ было выявлено, что в липосаркомах образцы с высокой экспрессией белка Bax обладали большей резистентностью к гемцитабину и доцетакселу. В синовиальных саркомах образцы с высокой экспрессией белка Bax и GADD45a были менее резистентны к доксорубину и ифосфамиду, в то время как образцы с экспрессией AIFM2 были менее резистентны к доцетакселу и гемцитабину. В недифференцированных плеоморфных саркомах образцы с высокой экспрессией белка GADD45a были менее резистентны к доксорубину, ифосфамиду, доцетакселу и гемцитабину.

**Закключение.** При анализе в общей группе СМТ практически не наблюдалась связь экспрессии исследуемых белков с резистентностью к препаратам, однако при анализе внутри гистологических подгрупп было обнаружено, что резистентность в недифференцированных плеоморфных и синовиальных саркомах наиболее связана с активностью исследуемых белков. Данные подтипы сарком обладают сложностью в прогностическом эффекте лекарственного лечения.

## Роль рецепторов ангиотензина II 2-го типа и синдекана 1 при раке предстательной железы

Е.А. Черногубова<sup>1</sup>, М.Б. Чибичян<sup>2</sup>, М.И. Коган<sup>1,2</sup>,  
А.В. Аветян<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ «Южный научный центр РАН», Ростов-на-Дону;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону  
e-mail: eachernogubova@mail.ru

**Введение.** Активация локальной ренин-ангиотензиновой системы вовлечена в патогенез РПЖ и простатической интраэпителиальной неоплазии. Рецепторы ангиотензина II 1-го и 2-го типов принадлежат к классу рецепторов, сопряженных с G-белком. Синдекан 1 принадлежит семейству трансмембранных белков, выступающих ко-рецепторами рецепторов, сопряженных с G-белком. В связи с этим перспективным представляется анализ роли рецепторов ангиотензина II 2-го типа и синдекана-1 в механизмах онкогенной трансформации предстательной железы.

**Цель исследования** — оценить экспрессию рецепторов ангиотензина II 2-го типа (AT2-R) и синдекана 1 при предраковых и злокачественных новообразованиях в предстательной железе.

**Материалы и методы.** Для ИГХ-исследования использован материал полифокальных пункционных биопсий 20 мужчин: 10 мужчин — с простатической интраэпителиальной неоплазией высокой степени (ПИН-3), 10 мужчин — с РПЖ. Для ИГХ-исследования использовали первичные антитела к AT2-R и антитела CD138 (клон MI 15), систему визуализации EnVision FLEX (Dako, Дания). Постановка ИГХ-реакций, интерпретация полученных результатов проведены по общепринятым правилам.

**Результаты.** Экспрессия AT2-R в ткани предстательной железы снижалась в ряду простатической интраэпителиальной неоплазии — РПЖ. В опухолевых клетках при РПЖ отмечалась слабая экспрессия AT2-R либо ее отсутствие, при этом локализация рецептора AT2-R была ядерной. Однонаправленные изменения экспрессии отмечены для синдекана 1. При ПИН-3 экспрессия синдекана-1 локализовалась на мембране базальных клеток и базолатеральной стороне секреторных эпителиальных клеток без экспрессии в прилегающей строме, при этом уровень экспрессии всегда был высоким. При РПЖ мембранная экспрессия синдекана-1 сохранялась, а ее уровень снижался. При уменьшении или отсутствии ядерной экспрессии AT2-R в ткани РПЖ с повышением ISUP уровень экспрессии синдекана 1 снижался.

**Заключение.** Впервые показано одновременное снижение уровней экспрессии AT2-R и синдекана 1 при РПЖ. Снижение экспрессии синдекана 1 и AT2-R в ткани предстательной железы может стать показани-

ем для повторной биопсии предстательной железы и предиктором развития РПЖ.

*Работа выполнена при финансовой поддержке ЮНЦ РАН (госзаказ № 122020100304-5).*

## Экспрессия лизилоксидазы и анализ сосудистого русла увеальной меланомы человека

А.Ю. Шатрук<sup>1</sup>, Н.П. Бгатова<sup>1</sup>, Н.В. Кононова<sup>2</sup>,  
А.В. Еремина<sup>2</sup>, А.Н. Трунов<sup>2</sup>, В.В. Черных<sup>2</sup>, Ю.С. Таскаева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск;

<sup>2</sup>ФГАУ «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, Новосибирск  
e-mail: anastasiashatruk@yandex.ru

**Введение.** Увеальная меланома отличается интенсивным ростом сосудистой сети, связанным с гематогенным путем метастазирования. Несмотря на прогресс в разработке стратегий антиангиогенной терапии, остается актуальным поиск новых мишеней для терапии увеальной меланомы. Лизилоксидаза — фермент, преобразующий коллаген в нерастворимые волокна для стабилизации внеклеточного матрикса и сосудистой сети. Известно, что лизилоксидаза способствует ангиогенезу при различных типах рака, однако ее роль в ангиогенезе при увеальной меланоме неясна.

**Цель исследования** — оценка экспрессии лизилоксидазы и анализ сосудистого русла у пациентов с увеальной меланомой.

**Материалы и методы.** В качестве объекта исследования были использованы фрагменты энуклеированных глаз пациентов Новосибирского филиала ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России. Исследование было проведено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации, было получено разрешение локального этического комитета НИИКЭЛ — филиала ИЦИГ СО РАН (протокол № 180 от 28.04.2023). Образцы опухоли и постэкваториальной зоны хориоидеи фиксировали в 4 % растворе формальдегида и подвергали стандартной процедуре пробоподготовки для проведения ИГХ-окрашивания на маркер лизилоксидазы.

**Результаты.** Экспрессия лизилоксидазы в опухоли была выше в 4,6 раза по сравнению с хориоидеей ( $p < 0,05$ ). При оценке объемной плотности сосудов не было выявлено достоверных различий, однако численная плотность сосудов была выше в 2,4 раза в опухоли по сравнению с хориоидеей ( $p < 0,0005$ ).

**Заключение.** Таким образом, можно предположить, что высокий уровень экспрессии лизилоксидазы может быть связан с повышением численной плотности мелких кровеносных сосудов в интратуморальной зоне



опухоли как следствие активации процессов ангиогенеза при увеальной меланоме.

*Работа выполнена в рамках государственного задания НИИКЭЛ — филиала ИЦиГ СО РАН (проект № NFWNR-2022-0012).*

## Идентификация потенциальных протеомных маркеров церебральных метастазов колоректального рака

В.Е. Шевченко, Т.И. Кушнир, А.А. Митрофанов,  
А.Х. Бекашев, А.В. Полюновский, З.З. Мамедли,  
Н.Е. Арноцкая

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва  
e-mail: vshev2015@yandex.ru

**Введение.** Церебральные метастазы при КРР возникают у ~3 % онкологических больных и ассоциируются с плохим прогнозом. Текущие методы их лечения являются паллиативными, и пациенты с симптоматическими церебральными метастазами при КРР имеют годовую выживаемость <20 %. Тем не менее для клиницистов важны характеристики, связанные с церебральными метастазами при КРР, которые могут привести к ранней диагностике этого заболевания и улучшению выживаемости пациентов. Предполагаемыми предикторами поражения головного мозга являются молекулярные маркеры, такие как мутации KRAS, BRAF, NRAS, а также повышенные уровни CEA и CA19,9. Однако только мутации KRAS достаточно хорошо изучены и связаны с повышенным риском развития церебральных метастазов при КРР, а протеомные маркеры имеют низкую чувствительность и специфичность.

**Цель исследования** — идентификация потенциальных протеомных маркеров церебральных метастазов КРР.

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

**Результаты.** Выполнено картирование протеомов церебральных метастазов при КРР и нормальной ткани головного мозга человека. В целом идентифицировано 2639 белков. Проведен сравнительный биоинформатический анализ полученных результатов с протеомом метастатического РТК из открытых баз данных. Установлены биологические процессы с участием дифференциально экспрессированных белков 2 протеомов и их молекулярные функции. По ранее полученным данным перечисленные ниже маркеры участвуют в патогенезе КРР и имеют повышенную экспрессию при метастатическом КРР по сравнению с первичным раком. Среди идентифицированных маркеров наибольший интерес представляют CEACAM5, FAP, FCER1G, GPRC5A, LTF, MPO, MXRA7, S100A8, S100A9, S100A11, S100A12, S100P, SERPINH1 и THBS2.

**Заключение.** Масс-спектрометрический анализ идентифицировал 14 потенциальных протеомных маркеров церебральных метастазов при КРР. Требуются дополнительные исследования по их обнаружению в биологических жидкостях больных КРР.

## Регуляция транскрипции ATF4 индукторами опухолевого супрессора p53

М.И. Шилева<sup>1</sup>, И.Е. Ковалева<sup>2</sup>, А.А. Далина<sup>1,3</sup>,  
П.М. Чумаков<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины, Москва;

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

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт молекулярной биологии  
им. В.А. Энгельгардта РАН», Москва  
e-mail: nyantoweam@gmail.com

**Введение.** Интегральный антистрессовый ответ и p53-зависимая сигнализация — 2 основные программы, которые служат для поддержания клеточного гомеостаза. P53-опухолевый супрессор и транскрипционный фактор регулируют пролиферацию, гибель и метаболизм клеток. Транскрипционный фактор ATF4, один из основных компонентов интегрального антистрессового ответа, активируется в ответ на широкий диапазон метаболических стрессов. Обработка ингибитором комплекса III дыхательной цепи митохондрий миксотиазолом в течение 5 ч приводит к увеличению уровня мРНК ATF4; более длительная инкубация (6 ч и более) приводит к истощению пула пиримидинов с последующей индукцией p53. Мы обнаружили, что по мере накопления p53 падает уровень мРНК ATF4, чего не происходит при восполнении пула пиримидинов, которое предотвращает активацию p53. Известно, что p53 может репрессировать гены за счет сигнального пути p53-p21-DREAM. На основании этого мы предположили, что активация p53 может ингибировать транскрипцию ATF4. Мы проверили влияние индукторов p53, действующих по различным механизмам, на базовый уровень мРНК ATF4 на фоне стресса эндоплазматического ретикула и ингибирования дыхательной цепи митохондрий.

**Цель исследования** — проанализировать влияние индукции p53 на транскрипцию ATF4.

**Материалы и методы.** Клетки HCT116 были обработаны индукторами p53 — доксорубицином и топо-теканом, а также нутлином-3а и RG711 — агентами, приводящими к специфическому накоплению p53 на фоне активации ATF4 индукторами эндоплазматического ретикула — туникамицином и брэфельдином А, и ингибиторами дыхательной цепи митохондрий — пирицидином А и комбинацией миксотиазола и уридина. Уровень мРНК мишеней измеряли с помощью обратной транскрипции ПЦР-PB.

**Результаты.** В клетках НСТ116 доксорубин снижает как базовый уровень мРНК ATF4, так и брэфельдин А, пиридин А или комбинацию миксотиазола и уридина.

Топотекан снижает и базовый уровень мРНК ATF4, и туникамицин, пиридин А или комбинации миксотиазола и уридина. При воздействии специфичных индукторов p53 нутлина-3а и RG7112 происходит сни-

жение базового уровня мРНК ATF4, а также пиридина А, в то время как при обработке туникамицином, брэфельдином А и комбинацией миксотиазола и уридина подобные эффекты не наблюдаются.

**Заключение.** Активация p53 всеми протестированными агентами приводит к снижению базового уровня мРНК ATF4 в клетках НСТ116. На фоне активации ATF4 эффекты индукторов p53 зависят от природы стрессов.

## Секция III

## Молекулярная диагностика опухолей

## Кандидатные биомаркеры рака толстой кишки с метастатическим поражением легких

Н.Н. Бабышкина<sup>1,2</sup>, Т.А. Дронова<sup>1</sup>, Д.А. Еремин<sup>1</sup>,  
А.Ю. Добродеев<sup>1</sup>, Д.Н. Костромицкий<sup>1</sup>, Н.В. Чердынцева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный  
исследовательский медицинский центр РАН», Томск;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский  
университет» Минздрава России, Томск  
e-mail: nbabyshkina@mail.ru

**Введение.** РТК — один из наиболее распространенных типов злокачественных опухолей с метастатическим поражением легких в 10–30 % случаев. Изучение молекулярных особенностей метастатического РТК позволит выявить потенциальные маркеры и терапевтические мишени для эффективного контроля над заболеванием.

**Цель исследования** — идентифицировать ключевые гены и молекулярные процессы, вовлеченные в процесс метастазирования РТК в легкие.

**Материалы и методы.** Для поиска дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) отобрано 16 парных образцов (опухолевая и прилежащая нормальная ткань толстой кишки, метастатический узел в легких и нормальная ткань легкого) от 4 пациентов с метастатическим РТК. РНК-секвенирование проведено на платформе DNBSeq с использованием набора DNBSEQ-G400RS High-throughput Sequencing Kit (MGI, Китай). Обогащение по биологическим процессам и путям определено с помощью баз данных Hallmark gene sets, Reactome, KEGG и Gene Ontology.

**Результаты.** Идентифицировано 206 генов, экспрессия которых значимо различалась в опухоли толстой кишки и ткани метастаза в легких ( $\text{padj} < 0,05$ ). Среди ДЭГ в опухоли толстой кишки с наиболее высоким уровнем транскрипции отобраны *MMP1*, *COL7A1*, *MMP11*, *GRIN2B*, *GREM1*, *MMP3*, *GAS1*, *ANGPTL2*, *BMP8A*, *MTCL1* ( $\log_2\text{FC} > 1$ ;  $\text{padj} < 0,05$ ). Спектр ДЭГ в ткани метастаза включал *TTN*, *FOSB*, *FOSL1*, *KCNH8*, *FOS*, *C7*, *PAN2*, *EGR1*, *DSCAML1*, *LINC01322* ( $\log_2\text{FC} > 1$ ;  $\text{padj} < 0,05$ ). Данные анализа обогащения показали, что активация сигнальных каскадов, определяющих поведение внеклеточного матрикса и состояние иммунной системы, может играть ведущую роль в метастазировании РТК.

**Заключение.** Последующий комплексный анализ ДЭГ и кодируемых ими белков позволит всесторонне охарактеризовать молекулярные механизмы формирования метастатического поражения легких при РТК.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ  
(грант № 22-15-00212; <https://rscf.ru/en/project/22-15-00212/>)

## Сывороточные галектины 1, 3, 4, 7, 9 при почечно-клеточном раке

А.Г. Басов, С.Д. Бежанова, В.Б. Матвеев, И.А. Климанов,  
И.С. Стилиди, Н.Е. Кушлинский

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

**Цель исследования** — изучение содержания растворимых форм галектинов 1, 3, 4, 7, 9 у больных ПКР с учетом основных клинико-морфологических характеристик заболевания.

**Материалы и методы.** В исследование включены 140 пациентов с ПКР и 73 здоровых донора (группа контроля), получавшие обследование и лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. Клинический диагноз у всех пациентов подтвержден данными морфологического исследования опухоли согласно Международной гистологической классификации опухолей почки (Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ), 2016). Концентрацию галектинов 1, 3, 4, 7, 9 определяли в сыворотке крови до начала специфического лечения с помощью наборов реактивов для прямого ИФА Human Galectin-1, -3, -9 Quantikine ELISA (R&D Systems, США) и Galectin-4, -7 Quantikine ELISA (RayBiotech, США) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе BEP 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия). Полученные данные обрабатывали с помощью программы GraphPad Prism 9.0. При сравнении показателей и анализе их взаимосвязей использовали непараметрические критерии Манна–Уитни, Краскела–Уоллиса, коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

**Результаты.** Показано, что содержание галектина 1 в сыворотке крови статистически значимо выше у больных светлоклеточным и папиллярным ПКР

по сравнению со здоровыми донорами. Для галектина 7 не выявлено различий между группой контроля и больными раком почки. В ходе анализа ассоциации содержания этих белков с клинико-морфологическими характеристиками заболевания не выявлено значимых различий в целом по группе ПКР, однако данные корреляционного анализа показали, что уровень галектина 7 в сыворотке крови больных папиллярным раком почки коррелирует со степенью дифференцировки опухоли. Повышение содержания галектина 3 в сыворотке крови пациентов обнаружено для всех гистологических подтипов ПКР, однако результаты анализа рабочей характеристики приемника (ROC) свидетельствуют о среднем качестве модели, что не позволяет использовать полученные данные в диагностических целях. Наблюдали значимое повышение содержания галектинов 4 и 9 в сыворотке крови больных светлоклеточным раком почки. При этом выявлена прямая статистически значимая корреляционная связь между концентрацией галектина 9 и размером опухоли, а также наличием регионарных метастазов.

**Заключение.** Исследованные галектины 1, 3, 4, 7, 9 ассоциированы с развитием различных гистологических вариантов ПКР. Кроме того, изученные галектины могут служить потенциальными мишенями лекарственной терапии рака почки. Однако, прежде чем терапевтические средства на основе галектинов будут внедрены в клиническую практику, необходимо более глубокое понимание механизмов их функционирования. Полученные данные свидетельствуют о перспективах исследования и настоятельно указывают на его продолжение.

### Экспрессия молекулярных маркеров в BRAF V600E-отрицательных меланомах кожи на территории Томской области

В.А. Богданова<sup>1</sup>, Л.В. Спирина<sup>1,2</sup>, С.Ю. Чижевская<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск  
e-mail: Vnika6906@yandex.ru

**Цель исследования** — сравнение экспрессии молекулярных маркеров в BRAF V600E-отрицательных меланомах кожи с доброкачественными новообразованиями в зависимости от клинических проявлений и исходов заболевания.

**Материалы и методы.** У 33 пациентов с верифицированным диагнозом меланомы кожи различных локализаций T1a–4vN0M0 (I–IV) стадий и 18 пациентов с невусами кожи в возрасте 45–72 лет определены экспрессия компонентов АКТ/mTOR-сигнального пути, транскрипционных и ростовых факторов в ткани опу-

холи (определяли методом ПЦР-PB), а также статус мутации гена BRAF.

**Результаты.** В исследование включены BRAFV600E-отрицательные опухоли, где наличие признаков изъязвления ассоциировано с низким уровнем мРНК c-RAF, NF-κB p50 и HIF-1 на фоне роста экспрессии транскрипционного фактора HIF-2. Результаты исследования молекулярных особенностей новообразований в зависимости от толщины опухоли по Бреслоу позволили выявить вклад транскрипционных и ростовых факторов, интенсивности процессов внутриклеточного сигналинга, модификации микроокружения, процессов аутофагии и неоангиогенеза.

**Заключение.** Выявлены молекулярные и биологические особенности BRAF-отрицательных меланом кожи. Наличие признаков изъязвления и инвазия опухоли были ассоциированы с изменением транскрипционных факторов с индукцией ключевых маркеров онкогенеза, что способствовало формированию инвазивного потенциала опухоли.

### Характеристика ткани немелкоклеточного рака легкого по количественным показателям экспрессии β-тубулина III класса

Т.А. Богущ, А.Н. Гришанина, А. Ли, И.П. Романов, К.И. Чандрян, С.А. Калюжный

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

**Введение.** Белок цитоскелета β-тубулин III класса (TUBB3) ассоциируется с устойчивостью опухоли к таксанам и винкалкалоидам, а также с метастатическим потенциалом новообразования, однако данные ИГХ-анализа экспрессии TUBB3 в ткани НМРЛ у пациентов с этим заболеванием немногочисленны и противоречивы.

**Цель исследования** — характеристика уровня и интенсивности экспрессии TUBB3 в ткани НМРЛ и анализ корреляции выявленных показателей с клинически значимыми характеристиками этого заболевания.

**Материалы и методы.** Проведена количественная оценка уровня и интенсивности экспрессии TUBB3 в 120 хирургических образцах НМРЛ иммунофлуоресцентным методом с использованием проточной цитометрии. Использованы первичные кроличьи моноклональные антитела, специфичные к TUBB3 (клон EP1569Y), и вторичные антикроличьи антитела, конъюгированные с флуоресцентным красителем DyLight650 (ab98510). Уровень флуоресценции измеряли на проточном цитометре Navios (Beckman Coulter, США). Экспрессия маркера оценена по 2 показателям: уровень — процент клеток, экспрессирующих TUBB3; интенсивность (усл. ед.) — отношение среднего геометрического интенсив-



ности флуоресценции в опытном и контрольном образцах (инкубация клеток только с вторичными антителами). Статистический анализ проведен в программе GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software, США).

**Результаты.** Экспрессия TUBB3 выявлена во всех исследованных образцах НМРЛ. Медиана уровня и интенсивности экспрессии маркера составила 30,5 % и 2,0 усл. ед. при значительных различиях (до 10 раз) количественных значений обоих показателей у разных больных.

Характер распределения исследованных опухолей по уровню и интенсивности экспрессии TUBB3 отличен от нормального ( $p < 0,001$ ), ассоциативная связь между показателями экспрессии маркера очень сильная (коэффициент ранговой корреляции Спирмена составил 0,91;  $p < 0,0001$ ).

При статистическом анализе не выявлено корреляционных связей уровня экспрессии TUBB3 с полом и статусом курения пациентов, степенью дифференцировки опухоли, а также стадией НМРЛ.

В группе аденокарцином легкого медиана уровня экспрессии TUBB3 статистически значимо выше по сравнению с плоскоклеточным РЛ у больных мужского и женского пола ( $p = 0,01$ ).

**Заключение.** Высокая гетерогенность уровня экспрессии TUBB3 в ткани НМРЛ у больных и различия показателя между опухолями разного гистотипа указывают на важность дальнейшего проведения корреляционного анализа уровня экспрессии TUBB3 с продолжительностью жизни больных НМРЛ для выявления прогностической ценности маркера.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ  
(грант № 24-25-20080,  
<https://rscf.ru/project/24-25-20080/>).*

## Злокачественные опухоли пищевода и их протеолитическая активность

В.В. Бочков<sup>1</sup>, Е.И. Гоуфман<sup>1</sup>, Ю.Б. Кузьмин<sup>2</sup>,  
Н.Е. Кушлинский<sup>2</sup>, И.С. Стилиди<sup>2</sup>, Л.М. Михалева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына»  
ФГБНУ «Российский научный центр хирургии  
им. акад. Б.В. Петровского», Москва;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва  
e-mail: n.kushlinsky@ronc.ru

**Цель исследования** — анализ продуктов деградации IgG сыворотки крови больных раком пищевода на основе нового иммуноферментного теста.

**Материалы и методы.** Исследованы 43 сыворотки больных раком пищевода в различных стадиях, в 88 % случаев выявлен плоскоклеточный рак пищевода. Результаты анализа данных биопсии соответствовали Международной гистологической классификации опухолей желудочно-кишечного тракта (ВОЗ, 2020). В группу

контроля включили 20 здоровых доноров (12 мужчин и 8 женщин). Образцы сыворотки и плазмы крови взяты у больных до лечения и хранились в течение 2 мес при температуре  $-80^{\circ}\text{C}$ . Плазминоген выделяли из пула плазмы человека аффинной хроматографией на Lys-Sepharosa 4B. Чистоту препаратов оценивали методом электрофореза в 12 % ПААГ. Тяжелую цепь плазминогена Pg-H получали активацией плазминогена урокиназой (Medak GmbH, Германия) с последующим восстановлением S—S-связей между цепями плазмина. ИФА проводили в 96-луночном планшете, где в качестве детектора в ячейках была иммобилизована тяжелая цепь плазминогена. В ячейки планшета вносили по 100 мкл сыворотки больных и контрольной группы, разбавленной 1:300 PBS, содержащим 0,5 % BSA. Связавшиеся фрагменты IgG выявляли конъюгатом, содержащим 100 мкл мышиных моноклональных антител к IgG человека с пероксидазой хрена. Реакцию проявляли добавлением 100 мкл тетраметилбензидина с перекисью водорода. Реакцию останавливали 2 М раствором  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Каждый эксперимент повторяли трижды. Регистрацию реакции проводили с помощью многоканального спектрофотометра (Bio-Rad, Hercules CA, США) при поглощении с фильтром 450 нм (A450). Уровень IgG-фрагментов (IgG-LysK), связавшихся с Pg-H, выражали с помощью отношения значения оптической плотности образца сыворотки, полученного с помощью ИФА, к пороговому значению, которое рассчитывали с помощью ROC-анализа оптической плотности образцов пациентов в сравнении с оптической плотностью здоровых доноров. Для статистического анализа данных использовали программу Statistica (версия 12, StatSoft Inc., США).

**Результаты.** Представлены результаты сравнительного ИФА уровня продуктов деградации IgG (коэффициент деградации IgG-LysK), возникающих в результате протеолиза в опухолевом поле, в образцах сыворотки крови 43 больных раком пищевода и 20 здоровых доноров. Уровень IgG-LysK у здоровых доноров был существенно ниже, чем при раке пищевода. Данные ROC-анализа показали высокие чувствительность (91 %) и специфичность (85 %) теста в группе больных раком пищевода.

**Заключение.** Оценка уровня протеолитических фрагментов IgG может быть добавлена к панели биологических маркеров, используемой в настоящее время для выявления рака пищевода, что значительно расширит наши представления о молекулярных механизмах протеолитических фрагментов IgG в развитии этого заболевания.

## Новые длинные некодирующие РНК и микроРНК в эпигенетической регуляции экспрессии генов в опухолях яичников

А.М. Бурденный<sup>1</sup>, Л.А. Урошлев<sup>1</sup>, Д.М. Зайченко<sup>1</sup>,  
С.С. Лукина<sup>1</sup>, Я.Р. Астафьева<sup>1</sup>, В.И. Логинов<sup>1</sup>,  
И.В. Пронина<sup>1</sup>, Е.А. Филиппова<sup>1</sup>, Т.П. Казубская<sup>2</sup>,  
А.А. Московцев<sup>1</sup>, Э.А. Брага<sup>1</sup>, Н.Е. Кушлинский<sup>2</sup>

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

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

Минздрава России, Москва  
e-mail: n.kushlinsky@ronc.ru

**Цель исследования** — скрининг новых днРНК и мРНК-мишеней, взаимодействующих с онкосупрессорными микроРНК (miR-137, miR-124, miR-33b) в опухолях яичников по механизму конкурирующих РНК (днРНК/микроРНК/мРНК).

**Материалы и методы.** Набор данных NCBI GEO GSE119055 использован в скрининге мРНК и днРНК, отрицательно коррелирующих с miR-124-3p/-5p и miR-137-3p ( $rs < -0,6$ ;  $p < 0,001$ ), с последующим локальным выравниванием нуклеотидных последовательностей с помощью алгоритма Смита–Ватермана. Выполнена трансфекция клеток SKOV3 и OVCAR3 мимиками miR-124-3p и miR-137-3p в 4 биологических повторах с анализом уровней днРНК и мРНК с использованием высокопроизводительных микрочипов Affymetrix HTA 2.0 в паре с последующей ОТ-ПЦР. Уровни экспрессии кандидатных РНК 3 типов исследованы ОТ-ПЦР в 50 парных (Т/Н) образцах РЯ (микроРНК, с использованием TaqMan MicroRNA Assays). Для оценки значимости применены непараметрический критерий Манна–Уитни U и коэффициент корреляции Спирмена.

**Результаты.** Биоинформатически выявлены 2200 парных взаимодействий днРНК с miR-124-3p, miR-124-5p и miR-137 ( $rs < -0,6$ ;  $p < 0,001$ ; 6-8mer); miR-124-3p предсказательно связывает 822 мРНК, miR-124-5p — 1477 мРНК, miR-137—613 мРНК (7-8mer). Предсказаны и определены методом ОТ-ПЦР на клинических образцах попарные взаимодействия GAS5/miR-124-5p, MAGI2-AS3/miR-137-3p, MAGI2-AS3/miR-33b-5p, MEG3/miR-33b-5p, SEMA3B-AS1/miR-137-3p ( $rs < -0,3$ ;  $p < 0,05$ ) и потенциальный триплет MAGI2-AS3/miR-33b-5p/VIM, ZEB1. Пересечение предсказательных данных с функциональным ответом клеток SKOV3 и OVCAR3 на сверхэкспрессию miR-137-3p и результатами ОТ-ПЦР на клинических образцах выявило потенциальные взаимодействия GAS5/-KCNK15-AS1/-ZNF667-AS1/miR-137-3p/HLTF. VIM и ZEB1 — драйверы ЭМП, а HLTF регулирует транскрипцию ряда генов через структуру хроматина.

**Заключение.** Определены новые днРНК GAS5, KCN15-AS1, MAGI2-AS3, MEG, ZNF667-AS1 как потенциальные регуляторы экспрессии генов в опухолях

яичников через связывание miR-124-3p/-5p, miR-137-3p или miR-33b-5p.

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

## Вирусная нагрузка у первичных пациентов с раком желудка, ассоциированным с вирусом Эпштейна–Барр

А.С. Васильева<sup>1</sup>, А.Д. Молчанов<sup>1,2</sup>, А.К. Лубенская<sup>1</sup>,  
К.В. Смирнова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва  
e-mail: vasilyevaalex23@gmail.com

**Цель исследования** — определение вирусной нагрузки и ее взаимной связи с клиническими критериями у впервые поступивших на лечение пациентов с раком желудка (РЖ).

**Материалы и методы.** Исследование проводилось на образцах цельной крови пациентов с впервые диагностированным РЖ на разных стадиях. Всего исследовано 225 образцов тотальной ДНК, выделенных коммерческим набором «Евроген» Extract DNA Blood & Cells. Определение вирусной нагрузки проводилось при помощи ПЦР-РВ с использованием специфических праймеров. Для построения калибровочной кривой использовалась вируспroduцирующая клеточная линия Namalwa с рассчитанным количеством копий вируса на мкл ДНК. Для оценки взаимосвязи между положительным статусом вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ<sup>+</sup>) и клиническими параметрами (пол, возраст, TNM, стадия, наличие перстневидных клеток) использовался критерий Фишера, связь считалась значимой при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Статус ВЭБ<sup>+</sup> определялся при наличии высокой вирусной нагрузки ( $\geq 500$  копий вируса в реакции). Среди всех 225 образцов такой статус получили 23 (10,2 %) образца. Среднее значение копий вируса при ВЭБ<sup>+</sup>-статусе составило 1186 (межквартильный интервал 915,15–5467,24), минимальное — 492, максимальное — 27583,02. Не обнаружена статистически значимая ассоциация ВЭБ<sup>+</sup>-статуса с полом ( $p = 0,685$ ), возрастом до 50 лет и от 50 лет ( $p = 0,894$ ), стадией первичной опухоли (Т) и метастазами (М) ( $p = 0,821/0,560$ ), стадией ЗНО ( $p = 0,685$ ), наличием или отсутствием перстневидных клеток ( $p = 0,685$ ).

**Заключение.** Среди основных клинических показателей не выявлено какой-либо зависимости. Для обнаружения статистически значимой ассоциации стоит расширить клинические параметры или рассмотреть другие значимые вирусные маркеры.

## Роль микроРНК в регуляции эпигенетических процессов при раке желудка

Е.А. Ветчинкина<sup>1</sup>, И.В. Буре<sup>1</sup>, Е.Б. Кузнецова<sup>1,2</sup>,  
А.И. Калинин<sup>2</sup>, А.Э. Киселева<sup>1</sup>, Е.А. Алексеева<sup>1</sup>,  
Н.В. Гороховец<sup>1</sup>, И.В. Родионов<sup>1</sup>, М.В. Немцова<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБНУ «Медико-генетический научный центр  
им. акад. Н.П. Бочкова», Москва  
e-mail: katevetchinkina@ya.ru

**Цель исследования** — изучить микроРНК miR-129-5p, miR-647, miR-3613-3p и их потенциальные мишени — днРНК PROX1-AS1 и ген *ARID1A*, вовлеченные в регуляцию эпигенетических механизмов при канцерогенезе желудка в тканях пациентов и клеточных линиях.

**Материалы и методы.** В исследование включены 110 парных образцов опухолевого материала и прилегающей морфологически нормальной ткани желудка, клеточные линии SNU-1, HCT116, MCF-7, SCBR3, 769-P, A549 и HEK293. Для эктопической экспрессии микроРНК в клеточных линиях полноразмерную комплементарную ДНК микроРНК клонировали в экспрессионную плазмиду pSecTag2B. Использовали стандартные генно-инженерные методы. Выделение тотальной РНК проводили с использованием Trizol, получение комплементарной ДНК и оценку уровня экспрессии — методом ПЦР-РВ. Полученные значения проанализированы с использованием метода Ливака. Статистический анализ выполнен с использованием Statistica 13.1, инструмента RNAhybrid 2.2, метода линейной регрессии и коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

**Результаты.** Обратная связь между уровнем экспрессии микроРНК и мишеней подтверждена с использованием энергии Гиббса и составила для пары PROX1-AS1 и miR-647  $-25,3$  ккал/моль; для *ARID1A* и miR-129-5p  $-28,5$  ккал/моль; для *ARID1A* и miR-3613-3p  $-21,9$  ккал/моль. Мы обнаружили слабую отрицательную линейную связь между относительным уровнем экспрессии PROX1-AS1 и miR-647 в опухоли ( $r = -0,09$ ;  $p = 0,37$ ) и прилежащих неопухолевых тканях ( $r = -0,18$ ;  $p = 0,053$ ); *ARID1A* и miR-129-5p —  $r = -0,2$ ;  $p = 0,04$  и  $r = -0,18$ ;  $p = 0,07$  соответственно; *ARID1A* и miR-3613-3p —  $r = -0,26$ ;  $p = 0,008$  и  $r = -0,25$ ;  $p = 0,009$  соответственно.

Эктопическая экспрессия miR-647 индуцировала снижение уровня мРНК PROX1-AS1 в клеточных линиях SNU-1 (на 40 %), HCT116 (на 48 %), MCF-7 (на 27 %), SKBR3 (на 35 %), A549 (на 22 %). Эктопическая экспрессия miR-129-5p индуцировала снижение уровня *ARID1A* в клеточных линиях SNU-1 (на 45 %), HEK (на 76 %), HCT116 (на 33 %), MCF-7 (на 29 %) и 769-P (на 36 %). Эктопическая экспрессия 2-й микроРНК miR-3613-3p приводила к снижению экспрессии *ARID1A* в клеточных линиях SNU-1 (на 68 %), HEK

(на 69 %), MCF-7 (на 16 %), SCBR3 (на 72 %) и 769-P (на 31 %).

**Заключение.** МикроРНК miR-129-5p, miR-647, miR-3613-3p и их потенциальные мишени — днРНК PROX1-AS1 и ген *ARID1A* — демонстрируют взаиморегуляцию в тканях пациентов с РЖ и в клеточных линиях SNU-1, HCT116, MCF-7, SCBR3, 769-P, A549 и HEK293.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 20-75-10117-П).

## Региональный опыт диагностики мутаций FLT3 у больных острыми миелоидными лейкозами пожилого и старческого возраста в условиях снятия эпидемических ограничений COVID-19

А.В. Виноградов<sup>1,2</sup>, С.В. Сазонов<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница № 1»,  
Екатеринбург;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский  
университет» Минздрава России, Екатеринбург;

<sup>3</sup>ГБУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»,  
Екатеринбург  
e-mail: vinogradov-av@ya.ru

**Введение.** В 2023 г. в связи с завершением пандемии COVID-19 Минздравом России была поставлена задача региональным органам власти организовать специализированную помощь в полном объеме согласно федеральным стандартам и клиническим рекомендациям. В соответствии с этим Минздравом Свердловской области генодиагностика острых миелоидных лейкозов (ОМЛ) была включена в Территориальную программу государственных гарантий бесплатного оказания гражданам медицинской помощи.

**Цель исследования** — оценить результаты детекции мутаций в гене *FLT3* у больных ОМЛ пожилого и старческого возраста.

**Материалы и методы.** В анализ включены 30 больных ОМЛ в возрасте 60–78 лет, получавшие лечение в Свердловском областном гематологическом центре в период снятия эпидемических ограничений COVID-19. Средний возраст пациентов составил 69,2 года. При диагностике ОМЛ выполняли цитологическое и цитохимическое исследования, иммунофенотипирование, цитогенетический анализ, детекцию транскриптов химерных генов, мутаций *FLT3*.

**Результаты.** Большинство исследуемых ( $n = 25$  (83,3 %)) были пожилого возраста. При морфологическом типировании преобладал вариант ОМЛ M2 — 19 (63,3 %) наблюдений, реже встречались подтипы M4 ( $n = 5$ ), M0 ( $n = 3$ ), M1 ( $n = 2$ ) и M3 ( $n = 1$ ). При цитогенетическом анализе в 16 (53,3 %) случаях выявлен



нормальный кариотип, в 8 (26,7 %) — генетические аномалии, ассоциированные с миелодисплазией, по 1 случаю —  $t(15;17)$ ,  $t(9;22)$ ,  $+11$  и  $del(20)(q13)$ . В 2 случаях цитогенетический вариант установить не удалось. В 4 (13,3 %) пробах выявлены мутации *FLT3*, из них в 3 — тандемные дупликации (ITD), в 1 — замена в тирозинкиназном домене. В 3 случаях они обнаруживались при ОМЛ с диплоидией, еще в 1 — с неуточненным кариотипом. Уровень аллельной нагрузки *FLT3* ITD определялся в диапазоне 0,38–3,24, медиана составила 0,64.

**Заключение.** ОМЛ у лиц пожилого и старческого возраста характеризуется преобладанием морфологического подтипа М2 и диплоидии, мутации *FLT3* определялись в 13,3 % случаев.

### Рекуррентные клинически значимые мутации при остром миелоидном лейкозе: анализ C-Bioportal for cancer genomics database и собственные данные

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

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

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский  
университет» Минздрава России, Новосибирск  
e-mail: vena.81@mail.ru

**Введение.** По данным литературы, частота мутаций в генах, ассоциированных с развитием ОМЛ, значительно варьирует, что повышает значимость анализа крупных баз данных, аккумулирующих информацию о мутационном спектре большого числа опухолевых образцов, исследованных с помощью методов NGS.

**Цель исследования** — получить актуальные данные о распространенности мутаций в «горячих точках» генов *FLT3*, *NPM1*, *IDH1*, *IDH2*, *DNMT3A* при ОМЛ.

**Материалы и методы.** Выполнен анализ представленных в C-Bioportal for cancer genomics database результатов NGS опухолевых образцов 1567 пациентов с ОМЛ. Определены рекуррентные мутации в анализируемых генах в собственной выборке, включающей 124 больных ОМЛ.

**Результаты.** На момент диагностики заболевания 46,6 % больных имеют мутации *DNMT3A* p.R882, *NPM1* p.W288Cfs\*12, *FLT3*-ITD и *FLT3*-TKD, *IDH1* p.R132, *IDH2* p.R140. Лишь в 30,1 % случаев мутация *DNMT3A* p.R882 встречается у пациентов в изолированном варианте. В 47,4 % случаев она сочетается с *NPM1* p.W288Cfs\*12; в 34,1 % — с мутациями в «горячих точках» гена *FLT3*; в 23,0 % — с рекуррентными мутациями *IDH1* и *IDH2*. Также в 42,8 % случаев *NPM1* p.W288Cfs\*12 выявляется комутация *FLT3*-ITD или *FLT3*-TKD. При этом

выявленная сочетанность остается статистически значимой ( $p < 0,001$ ) даже после поправки на множественность сравнений ( $q < 0,001$ ). В собственной выборке больных ОМЛ частота мутаций в «горячих точках» генов в целом соответствовала данным C-Bioportal for cancer genomics database и составила: *DNMT3A* p.R882 — 7,3 %; *NPM1* p.W288Cfs\*12 — 15,3 %; *FLT3*-ITD — 14,5 %; *FLT3*-TKD — 4,0 %; *IDH1* p.R132 — 5,6 %; *IDH2* p.R140 — 10,5 %.

**Заключение.** В 40–50 % случаев ОМЛ в дебюте заболевания обнаруживаются клинически значимые рекуррентные мутации в одном или нескольких изученных генах. Мутации, для которых разработаны препараты таргетного воздействия (ингибиторы *FLT3*, *IDH1* и *IDH2*), имеют 35 % пациентов. В 18,1 % случаев ОМЛ обнаруживается мутация *NPM1* p.W288Cfs\*12, которая может использоваться в качестве самостоятельной мишени для молекулярной оценки минимальной остаточной болезни, а в 35,3 % случаев — мутации *FLT3*-ITD и *FLT3*-TKD, *IDH1* p.R132 и *IDH2* p.R140, которые должны исследоваться для оценки минимальной остаточной болезни в сочетании с дополнительными маркерами. Характер сочетанности анализируемых драйверных мутаций при ОМЛ свидетельствует об их последовательном накоплении и синергизме в отношении лейкозогенеза.

### Транскрипт белка BRIP1 как неинвазивный биомаркер при глиомах различной степени злокачественности

И.Ф. Гареев<sup>1</sup>, С.А. Румянцев<sup>2</sup>, В.П. Чехонин<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова»  
Минздрава России, Москва  
e-mail: ilgiz\_gareev@mail.ru

**Цель исследования** — продемонстрировать роль BRCA1-взаимодействующей геликазы 1 (BRIP1) в глиоматогенезе с помощью биоинформатического анализа и определить возможности использования его транскрипта в качестве неинвазивного биомаркера в плазме крови у пациентов с глиомами различной степени злокачественности.

**Материалы и методы.** Проведен биоинформатический анализ на основе известных баз данных, включая GEPIA, GEO, TCGA, CGGA, The Human Protein Atlas. Выполнена ПЦР-РВ для измерения пред- и послеоперационного уровней экспрессии транскрипта BRIP1 в плазме крови у 77 пациентов с глиомой низкой степени злокачественности (ГНСЗ), 114 пациентов с глиомой высокой степени злокачественности (ГВСЗ) и 85 здоровых добровольцев в качестве контрольной группы. Диагностическая и прогностическая ценность



транскрипта BRIP1 в качестве биомаркера оценивалась с помощью кривой ROC и AUC, а также анализа Каплана—Майера.

**Результаты.** Репликация ДНК, гомологичная рекомбинация, репарация ошибочно спаренных нуклеотидов и нарушение клеточного цикла являются потенциальными молекулярными механизмами онкогенеза глиом посредством регуляции BRIP1. Результаты ПЦР-PB показали, что уровень экспрессии транскрипта BRIP1 в предоперационных образцах плазмы у пациентов с ГВСЗ был значительно выше, чем у пациентов с ГНСЗ и контрольной группы ( $p < 0,05$ ). Более того, уровень экспрессии транскрипта BRIP1 снижался в плазме крови у пациентов с ГВСЗ через 10 дней после операции по сравнению с уровнем экспрессии до операции ( $p < 0,05$ ).

Мы продемонстрировали, что сигнатура на основе транскрипта BRIP1 может хорошо отличать пациентов с ГНСЗ от ГВСЗ (0,83; 95 % ДИ 0,77–0,89;  $p < 0,001$ ), а также от контрольной группы (0,68; 95 % ДИ 0,60–0,76 и 0,92; 95 % ДИ 0,88–0,96;  $p < 0,05$ ), о чем свидетельствуют высокие показатели AUC. При этом сигнатура на основе BRIP1 может отличить одних и тех же пациентов с ГВСЗ до операции и после 10-дневной операции, а также от контрольной группы (0,87; 95 % ДИ 0,82–0,92 и 0,77; 95 % ДИ 0,70–0,84;  $p < 0,05$ ). Эти результаты позволяют предположить, что BRIP1 обладает высокой способностью дифференцировать пациентов с глиомами внутри исследуемых групп и пациентов с глиомами от здоровых добровольцев. Результаты дальнейшего анализа показали, что пациенты с ГВСЗ с более высоким уровнем экспрессии транскрипта BRIP1 в плазме крови имели значительно менее длительную общую выживаемость ( $p = 0,0095$ ), особенно пациенты с частичной резекцией опухоли ( $p < 0,001$ ). Мы предполагаем, что BRIP1 может использоваться в качестве независимого фактора для прогнозирования выживаемости пациентов с ГВСЗ.

**Заключение.** BRIP1 может служить диагностическим и прогностическим неинвазивным биомаркером у пациентов с глиомами различной степени злокачественности и является элементом регуляторной системы микроокружения глиом.

## Скрининг на мутации TERT методом цифровой капельной полимеразной цепной реакции парных образцов ДНК из плазмы крови и опухолевых тканей пациентов с диагнозом глиобластомы

Т.Н. Гасанов<sup>1</sup>, Э.К. Писарев<sup>1</sup>, А.В. Сергеев<sup>1</sup>, С.Ф. Дрозд<sup>2</sup>,  
С.А. Павлова<sup>2,3</sup>, Д.Ю. Пантелеев<sup>3</sup>, Г.В. Павлова<sup>2,3</sup>,  
И.Н. Пронин<sup>2</sup>, М.Э. Зверева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва;

<sup>2</sup>ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко», Москва;

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт высшей нервной деятельности  
и нейрофизиологии РАН», Москва  
e-mail: mrtimurgasanov@gmail.com

**Введение.** Глиомы составляют до 30 % всех первичных опухолей головного мозга и около 80 % всех злокачественных опухолей центральной нервной системы. Наиболее злокачественная и агрессивная форма глиом, характеризующаяся быстрым ростом и гетерогенностью, неблагоприятным прогнозом, — глиобластома. Для расширения возможностей терапии и применения подхода персонализированной медицины необходимо создание неинвазивных методов диагностики для молекулярно-генетического профилирования опухолей центральной нервной системы по биомаркерам глиом с первоочередностью для глиобластом.

**Цель исследования** — проверка возможности создания неинвазивной системы определения мутаций TERT C228T и C250T на примере глиобластомы для молекулярно-генетической характеристики опухолевых поражений центральной нервной системы.

**Материалы и методы.** Исследованы коллекция образцов плазмы крови и тканей свежемороженых опухолевых образцов 52 пациентов в парном соответствии, коллекция выделенной ДНК из парных образцов. Применяли высокочувствительный метод цифровой капельной ПЦР для определения мутаций TERT (MAF < 1 %) и наборы для выделения ДНК разных производителей. Анализ данных цифровой капельной ПЦР проводили с базовой линией 20 событий.

**Результаты.** Методом цифровой капельной ПЦР при анализе выборки из 52 парных образцов ДНК (плазма — ткань) пациентов показано наличие мутаций C228T и C250T в опухолевых образцах: C228T обнаружена в 33 (63,5 %) случаях, C250T — в 14 (26,9 %). Также обнаружена 1 двойная мутация TERT с представленностью MAF по C228T (2,46 %) и C250T (1,03 %). В образцах внеклеточной ДНК показано наличие 3 образцов с C228T и 3 образцов с C250T. Мутация C228T обнаружена в 3 (9,1 %) из 33 случаев, а C250T — в 3 (21,4 %) из 14. Результаты согласованы с высоким уровнем MAF в опухолевых образцах тканей.

**Заключение.** Апробирована возможность неинвазивного определения мутаций C228T и C250T TERT в плазме крови пациентов с глиобластомой. Необходимо оптимизация количества выделенной внеклеточ-

ной ДНК и снижения уровня неспецифических событий для повышения чувствительности и специфичности метода.

*Работа выполнена при финансовой поддержке  
Минобрнауки РФ (соглашение № 075-15-2021-1343  
от 04.10.2021).*

## Частота встречаемости патогенного герминального варианта гена *LGR4* у пациентов с раком молочной железы

П.А. Гервас<sup>1</sup>, А.Ю. Молоков<sup>1</sup>, Н.В. Чердынцева<sup>1</sup>,  
Д.Г. Тихонов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный  
исследовательский медицинский центр РАН», Томск;  
<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет  
им. М.К. Аммосова», Якутск  
e-mail: pgervas@yandex.ru

**Введение.** Наследственный РМЖ — аутосомно-доминантное заболевание, возникающее в результате мутаций в генах *BRCA1/2*, *BRAD1*, *RAD54L*, *RAD51*, *ATM*, *BRIP1* и других. Спектр и распространенность мутаций могут различаться в разных регионах и этнических группах. Одним из таких генов-кандидатов при РМЖ является новый ген *LGR4*, которому в последнее время уделяется огромное внимание, и широко обсуждается его роль в патогенезе РМЖ и других ЗНО, так как он является участником опухоль-опосредованного Wnt/ $\beta$ -catenin-сигнального пути. Герминальный патогенный вариант гена *LGR4* rs34804482 (NM\_018490.3: c.2531A>G) был обнаружен нами в эксперименте с использованием полного секвенирования экзона у 43-летней пациентки с РМЖ, принадлежащей к тувинской этнической группе.

**Цель исследования** — изучить частоту встречаемости герминального патогенного варианта rs34804482 гена *LGR4* (NM\_018490.3: c.2531A>G) в этнических группах Западной Сибири методом ПЦР-РВ.

**Материалы и методы.** В исследование включены 735 больных РМЖ, принадлежащих к этническим группам Сибири (русские, буряты, тувинцы, якуты, алтайцы, хакасы). Средний возраст на момент постановки диагноза составил  $43 \pm 15,6$  года. Контрольную группу составили 727 здоровых женщин — представителей этнических групп Сибири.

Для проведения ПЦР с флуоресцентно-мечеными зондами использовали коммерческий набор «БиоМастер» HS-qPCR (2×) (Россия) для ПЦР-РВ.

**Результаты.** В общей группе больных РМЖ частота патогенного варианта (*LGR4* rs34804482) составила 0,027. Частота этого варианта у больных РМЖ составила 0,015 у русских; 0,022 у буряток; 0,069 у тувинок. Изученный вариант гена не выявлен у хакасов и якутов. У тувинок с РМЖ частота патогенного варианта гена *LGR4* была статистически значимо выше, чем у русских

женщин с РМЖ ( $\times 2 = 8,153$ ;  $p = 0,005$ ). Частота патогенного варианта у русских женщин (больных РМЖ и здоровых) составила 0,015 и 0,016 соответственно; у тувинок — 0,069 и 0,066 соответственно. Частота патогенного варианта гена *LGR4* rs34804482 у здоровых тувинок была статистически значимо выше, чем у здоровых русских женщин (0,066 против 0,016;  $\times 2 = 6,368$ ;  $p = 0,012$ ). Частота мутации у здоровых россиянок была близка к таковой у европейцев (0,016 против 0,0219). Наибольшая частота патогенного варианта гена *LGR4* rs34804482 выявлена среди здоровых тувинок (0,066), что статистически значимо выше, чем у американок (0,0000) и других этнических групп (по данным ExAc).

**Заключение.** Статистически значимых различий в частоте мутаций гена *LGR4* rs34804482 между больными РМЖ и здоровыми лицами в изученных этнических группах не выявлено. Наибольшая частота этого варианта выявлена среди здоровых тувинок (0,066), что статистически значимо выше, чем в других этнических группах.

## Обнаружение генетических перестроек при немелкоклеточном раке легкого с использованием картриджа Idylla GeneFusion Assay

Е.А. Демина<sup>1</sup>, Н.В. Казанцева<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ГБУЗ СО «Свердловский областной онкологический  
диспансер», Екатеринбург;  
<sup>2</sup>ГБУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»,  
Екатеринбург  
e-mail: Zhe-demina@mail.ru

**Введение.** Анализ Idylla GeneFusion Assay (Biocartis) на основе ДНК и РНК представляет собой полностью автоматизированный тест для одновременного определения перестроек в генах *ALK*, *ROS*, *RET*, *NTRK 1/2/3* и пропуска 14-го экзона гена *MET*. Метод обладает высокой чувствительностью и специфичностью, а также позволяет выявлять дисбаланс экспрессии.

**Цель исследования** — продиагностировать пациентов с НМРЛ на приборе Idylla (Biocartis) с использованием картриджа GeneFusion Assay.

**Материалы и методы.** Исследовано 36 образцов аденокарциномы легкого с блоков FFPE. Сделано по 2–3 среза толщиной 2 мкм. Содержание опухолевых клеток составляло  $\geq 50$  %. Срезы помещались в картридж согласно инструкции производителя. Оценивались критерии пациентов: пол, возраст, стадия заболевания, статус курения.

**Результаты.** Обнаружено 11 (30,5 %) генетических aberrаций. В гене *ALK* выявлены специфические перестройки в 4 (11,1 %) случаях, а в 2 (5,6 %) — дисбаланс экзонной экспрессии. Транслокации гена *RET* обнаружены у 3 (8,3 %) пациентов. Определен пропуск в 14-м экзоне гена *MET* в 2 (5,5 %) случаях. В 2 образ-

цах статус генов *NTRK2/3* носил сомнительный характер. Транслокаций ROS не обнаружено.

Носителями мутаций были мужчины (45,5 %) и женщины (54,5 %), средний возраст составил 43 года. Более 60 % были некурящими. Все пациенты с генетическими абберациями имели IV стадию, при этом у 74 % выявлялись вторичные очаги в легких и плевре.

У 1 курящего пациента 48 лет ранее был выявлен отрицательный статус гена *ALK* методом ИГХ-исследования, но по данным анализа Idylla GeneFusion удалось определить дисбаланс экзонной экспрессии в гене *ALK* и транслокацию в гене *RET*. По результатам исследования 4 пациентам со специфическими перестройками в гене *ALK* назначена таргетная терапия ингибиторами.

**Заключение.** Полностью автоматизированная система Idylla значительно сокращает время работы и позволяет выполнять одновременно целый спектр генетических исследований в кратчайшие сроки, особенно на малом материале. Тест позволяет определить дисбаланс экзонной экспрессии, что служит косвенным показателем наличия перестройки с неизвестным геном-партнером.

### Клиническое применение вирусного онкогена *LMP1* как молекулярного маркера рака желудка, ассоциированного с вирусом Эпштейна–Барр

В.А. Доманская<sup>1,2</sup>, А.С. Васильева<sup>1,3</sup>, А.Д. Молчанов<sup>1,2</sup>,  
А.К. Лубенская<sup>1</sup>, К.В. Смирнова<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва;

<sup>3</sup>ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»,  
Москва

e-mail: lera\_domanskaya@mail.ru

**Введение.** Актуальность разработки и клинической апробации новых молекулярных маркеров для дифференциальной диагностики и мониторинга злокачественных патологий человека, ассоциированных с ВЭБ, не вызывает сомнений. Ключевым вирусным онкогеном ВЭБ является латентный мембранный белок *LMP1*, чья экспрессия варьирует в различных типах ВЭБ-ассоциированных злокачественных патологий человека в зависимости от типа латентности онковируса.

**Цель исследования** — анализ клинического применения *LMP1* ВЭБ в качестве диагностического маркера у больных РЖ с высокой вирусной нагрузкой.

**Материалы и методы.** Для исследования отбирались пациенты с диагностированным РЖ, получающие лечение в клинических отделениях НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. Из образцов цельной крови, собран-

ной у пациентов, выделялись препараты тотальной ДНК с помощью стандартных коммерческих наборов. Определение вирусной нагрузки проводилось с использованием специфических наборов праймеров для ПЦР-РВ. Метод гнездовой ПЦР применялся для выявления вирусных последовательностей гена *LMP1*. Всего в исследование включено 225 образцов тотальной ДНК. Для статистической обработки полученных результатов (оценка взаимосвязи *LMP1* ВЭБ и клинических параметров (пол, TNM, стадия, статус ВЭБ, возраст)) использовался критерий Пирсона, статистически значимыми считались результаты при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Из 225 проанализированных образцов *LMP1* ВЭБ обнаружен у 29 (12,89 %) пациентов. Статистически значимой корреляции между положительным статусом ВЭБ и вирусным онкогеном *LMP1* не выявлено ( $p = 0,068$ ). *LMP1* обнаружен у 16 и 13 пациентов женского и мужского пола соответственно, статистически значимая взаимосвязь между наличием маркера и полом не обнаружена ( $p = 0,221$ ). Вирусный онкоген *LMP1* ВЭБ выявлен у 18 из 29 пациентов старше 50 лет, статистически значимая зависимость от возраста также не подтверждена ( $p = 0,494$ ). Доля пациентов с выявленным *LMP1* с РЖ I и II стадий составляет 17,24 %, III и IV стадий — 75,86 %. Взаимосвязь между наличием *LMP1* и развитием определенной стадии онкопатологии также не выявлена ( $p = 0,978$ ). У 79,3 % *LMP1*-положительных образцов стадия опухоли соответствовала T3–T4 согласно классификации TNM ( $p = 0,914$ ), присутствие отдаленных метастазов у исследуемых пациентов также не обнаружило статистически значимой связи с наличием *LMP1* ВЭБ ( $p = 0,188$ ).

**Заключение.** Полученные данные указывают на значимость выявления молекулярного маркера *LMP1* ВЭБ для дифференциальной диагностики ВЭБ-ассоциированных злокачественных онкопатологий, но при этом необходимо расширение выборки исследуемых пациентов и вирусных патологий.

### Повышение экспрессии *hsa-miR-27a* в клетках рака яичника приводит к усилению их злокачественности

А.Д. Еникеев, Г.О. Скрыбин, А.М. Керемет, А.А. Беляева,  
С.А. Кузьмичев, Е.М. Чевкина

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

**Введение.** МикроРНК активно участвуют в канцерогенезе за счет эпигенетической регуляции экспрессии генов и внутриклеточного сигналинга. Они задействованы в регуляции важнейших процессов роста и выживания клеток, а также ЭМП и инвазивной активности. Многие микроРНК известны опухоль-прототирующей или супрессорной активностью, однако

эта активность может быть опухоль-/тканеспецифичной и меняться в зависимости от молекулярного и клеточного контекста. miR-27a расположена в локусе 19p13.12 в составе кластера hsa-miR-23a~27a~24-2. Онкогенная роль miR-27a показана для РМЖ, гепатоцеллюлярной карциномы, рака поджелудочной железы и толстой кишки. В то же время опухоль-супрессорная активность miR-27a показана для НМРЛ, рака пищевода и некоторых других. Роль miR-27a в прогрессии РЯ ранее практически не исследовалась.

**Цель исследования** — анализ влияния микроРНК hsa-miR-27a на опухоль-ассоциированные характеристики клеток РЯ.

**Материалы и методы.** Исследованы клетки РЯ линии OVCAR3 методами молекулярного клонирования, псевдолентивирусной трансфекции, ПЦР, ОТ-ПЦР-PV в модификации Stem-loop, анализа пролиферации, клоногенности и миграционной активности клеток в камере Бойдена. Статистический анализ проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни или параметрического t-критерия Стьюдента. Статистически значимыми во всех случаях считали  $p < 0,05$ . Все данные получены в результате 3 независимых экспериментов.

**Результаты.** Последовательность, кодирующая предшественник микроРНК hsa-miR-27a, была амплифицирована из ДНК лимфоцитов крови здоровых доноров, клонирована в лентивирусный вектор plKO.1-puro и трансдуцирована в клетки OVCAR3 методом псевдолентивирусной трансфекции. Проверку гиперэкспрессии осуществляли методом ПЦР-PV с использованием праймеров с модификацией Stem-loop и TaqMan-зондов. Гиперэкспрессия hsa-miR-27a в клетки OVCAR3 привела к статистически значимому увеличению экспрессии обеих форм (miR-27a-3p и miR-27a-5p) в 2–3 раза по сравнению с контролем — клетками OVCAR3, экспрессирующими shGFP в векторе plKO.1-puro. Клетки OVCAR3 с повышенной экспрессией hsa-miR-27a продемонстрировали статистически значимое увеличение пролиферации, роста в условиях разреженного микроокружения (клоногенности), а также направленной миграции в сравнении с контрольной линией.

**Закключение.** Гиперэкспрессия hsa-miR-27a приводит к усилению злокачественного потенциала клеток OVCAR3.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 22-15-00373).*

## Проблема реализации молекулярно-генетической диагностики узловых образований щитовидной железы на предоперационном этапе

Е. Ю. Зяблицкая, Д. В. Зима, Э. Р. Асанова, О. Р. Хабаров, О. Ф. Безруков

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

**Введение.** Проанализировав результаты цитологии щитовидной железы на материале тонкоигольной аспирационной пункционной биопсии пациентов Республики Крым за 2019–2024 гг., мы отметили рост числа заключений Bethesda III (неопределенная атипия) с риском рака 10–30 % и рекомендацией наблюдения. Результаты мультицентровых исследований (ТНУCOVID, Fabio Medas, 2023), в которых мы также принимали участие, показали неэффективность стратегии отложенной операции у таких пациентов, и им рекомендовано выполнять молекулярно-генетическое исследование (МГИ).

**Цель исследования** — описать проблему МГИ узловых образований щитовидной железы на предоперационном этапе и предложить пути решения.

**Материалы и методы.** Опробованы методы работы с выделенной ДНК методом ПЦР и секвенирования по Сэнгеру на материале тонкоигольной аспирационной пункционной биопсии ( $n = 300$ ).

**Результаты.** Цитологические заключения пунктатов с Bethesda III в нашей лаборатории составили 6–10 % среди всех результатов тонкоигольной аспирационной пункционной биопсии. Среди них на послеоперационном этапе (хирурги придерживаются обоснованной стратегии оперирования таких пациентов) в 25 % случаев выявлен рак. Целевая группа, требующая выполнения МГИ на предоперационном этапе, составляет для нашего региона несколько сотен пациентов в год, у которых можно избежать ненужных операций в группе низкого риска и выполнить их, когда это необходимо.

При поиске технологического решения для МГИ пунктатов мы столкнулись с тем, что: 1) запрос на тестирование генов *BRAFV600E*, *RET/PTC1*, *RET/PTC3*, *PAX8-PPAR $\gamma$* , *KRAS*, *NRAS*, *HRAS*, *TERT*, *TP53*, *PIK3CA*, *AKT1*, по-видимому, очень широкий и требует корректировки; 2) в России доступно исследование 7-генной панели с чувствительностью 65 % методом ПЦР без регистрации и варианта решения получения требуемого количества ДНК; 3) отдельной задачей выбора материала является предварительная морфологическая верификация.

**Закключение.** Для предоперационного этапа необходимо добиваться максимального выхода ДНК, внедрять секвенирование капиллярным методом и NGS, продолжать исследования реальной прогностической значимости этих мутаций.



## Исследование ассоциации вируса папилломы человека с риском развития опухолей мочеполовой системы

М.К. Ибрагимова, Е.А. Кравцова, М.М. Цыганов,  
Н.В. Литвяков

НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный  
исследовательский медицинский центр РАН», Томск  
e-mail: imk1805@yandex.ru

**Введение.** Проблема заболеваний, ассоциированных с вирусом папилломы человека (ВПЧ), в настоящее время носит популяционный характер. На протяжении всей жизни 8 из 10 человек инфицируются данным вирусом, и у 2–9 % из них ВПЧ-инфекция персистирует, приводя к возникновению ЗНО.

**Цель исследования** — анализ мировых данных литературы по распространенности ВПЧ у больных с наличием ЗНО мочеполовой системы (вульва, яичник, эндометрий, мочевого пузырь, половой член, предстательная железа).

**Материалы и методы.** Проведен метаанализ распространенности ВПЧ с помощью программы Comprehensive Meta-Analysis 3.0. Критериями включения в исследование являлись соответствие локализации и морфологическое подтверждение диагноза, определение ВПЧ в опухоли методом ПЦР, наличие контроля в виде нормальной ткани. В качестве исследуемых образцов использовались парафиновые блоки и замороженная ткань опухоли.

В метаанализ включены: по раку полового члена — 545 образцов опухоли, 216 образцов контроля; по раку эндометрия — 785 и 297; по РЯ — 1163 и 738; по раку вульвы — 5992 и 2734; по раку мочевого пузыря — 1324 и 599; по РПЖ — 1721 и 1515 образцов соответственно.

**Результаты.** ВПЧ встречается при раке мочевого пузыря в 20,2 % случаев, в образцах контроля — в 6,7 % случаев. Показатель относительного риска (RR) развития рака мочевого пузыря при ВПЧ-инфекции составил 1,21 (1,10–1,24);  $p = 0,000416$ .

Распространенность ВПЧ при РПЖ составила 25,8 %, в образцах контроля — 9,2 %. Показатель RR РПЖ при ВПЧ-инфекции составил 3,07 (1,80–5,21);  $p = 0,0000012$ .

Распространенность ВПЧ при раке эндометрия составила 16,3 %, в образцах нормальной ткани — 8,8 %. Показатель RR развития рака эндометрия при ВПЧ-инфекции составил 1,07 (0,48–2,38).

Распространенность ВПЧ при РЯ составила 28,6 %, в образцах нормальной ткани — 8,8 %. Показатель RR развития РЯ при ВПЧ-инфекции составил 2,7 (1,97–3,64);  $p = 5,41 \times 10^{-12}$ .

Распространенность ВПЧ при раке вульвы составила 41,5 %, в образцах нормальной ткани — 2,4 %. Показатель RR развития рака вульвы при ВПЧ-инфекции составил 68,02 (30,2–153,1);  $p < 0,0001$ .

Распространенность ВПЧ при раке полового члена составила 43,2 %, в образцах контроля —  $< 1,0$  %. Показатель RR развития рака полового члена при ВПЧ-инфекции составил 142,6 (34,6–587,03);  $p = 6,09 \times 10^{-43}$ .

**Заключение.** Показано значительное увеличение риска развития опухолей мочеполовой системы при наличии ВПЧ-инфицирования, что доказывает важность своевременного мониторинга больных ВПЧ-инфекцией для создания групп риска развития ЗНО и подчеркивает необходимость дальнейшего включения ВПЧ-вакцинации в Национальный календарь профилактических прививок.

## Наличие атипичных/гибридных циркулирующих опухолевых клеток с признаком стволовости: связь с общей пятилетней выживаемостью больных раком эндометрия

Е.В. Кайгородова<sup>1,2</sup>, М.Ю. Грищенко<sup>2,3</sup>, И.С. Заваруев<sup>2</sup>,  
Ю.И. Тюкалов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный  
исследовательский медицинский центр РАН», Томск;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский  
университет» Минздрава России, Томск;

<sup>3</sup>ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер»,  
Томск

e-mail: zlobinae@mail.ru

**Введение.** В процессах рецидивирования и метастазирования рака эндометрия (РЭ) участвуют циркулирующие опухолевые клетки, которые по ранее полученным нами результатам представляют собой гетерогенную популяцию. Также показано, что опухолевые клетки могут образовывать гибридные формы с клетками крови, усиливая свою злокачественность.

**Цель исследования** — оценить связь наличия атипичных/гибридных циркулирующих опухолевых клеток с признаком стволовости с общей 5-летней выживаемостью больных РЭ.

**Материалы и методы.** В проспективное клиническое исследование NCT04817501 включены 55 больных с впервые диагностированным РЭ стадии T1a–2N0M0, 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 него. Наличие атипичных/гибридных форм EpCAM<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup>CD44<sup>+</sup>CD133<sup>+</sup> опухолевых 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, Ki-67 и красителя NucBlue Live Cell Stain Ready Probes reagent (Invitrogen, США).

**Результаты.** Из 55 больных РЭ, включенных в исследование, 8 пациенток умерли в течение 5-летнего наблюдения после хирургического лечения. Показано, что концентрация атипичных/гибридных форм  $EpCAM^+CD45^+CD44^+CD133^+$  опухолевых клеток в крови больных до операции значимо выше в группе пациенток, умерших после лечения, по сравнению с группой выживших ( $p = 0,034$ ). Данные оценки общей 5-летней выживаемости в группах больных РЭ с наличием атипичных/гибридных циркулирующих опухолевых клеток с признаком стволовости и без таковых в крови до операции показали значимые различия ( $p = 0,0014$ , *log-rank*-тест (Mantel–Cox); отношение рисков (Mantel–Haenszel) A/B ratio (and its reciprocal) 4,312; 95 % ДИ 1,756–10,59; B/A 0,2319; 95 % ДИ 0,09446–0,5695). Медианы выживаемости в 2 группах не достигнуты.

**Закключение.** Наличие атипичных/гибридных циркулирующих опухолевых клеток с признаком стволовости в крови больных РЭ до операции ассоциировано со снижением общей 5-летней выживаемости.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Президента РФ МД-2017.2020.7.*

### Экспрессия онкобелка E7 у пациенток с диагнозом рака шейки матки при положительной/отрицательной папилломавирусной инфекции

О.А. Капустина, М.Ю. Городнова, А.Д. Кручинина  
ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет»,  
Пенза  
e-mail: a.d.kruchinina@mail.ru

**Введение.** ВПЧ напрямую связан с высоким риском развития РШМ, занимающего 2-е место по распространенности среди злокачественных опухолей у женщин. Онкобелок E7 относится к вирусным белкам, контролирующим клеточный цикл и дифференцировку посредством воздействия на белок p53, белок ретинобластомы, циклины A и E, CDK2-киназу и ингибиторы циклинзависимой киназы p21 и p27. Экспрессия данного онкобелка играет ключевую роль в репликации вируса.

**Цель исследования** — оценка экспрессии онкобелка E7 у пациенток с диагнозом РШМ при положительном/отрицательном результате ПЦР-диагностики папилломавирусной инфекции.

**Материалы и методы.** Пациентки по результатам обследования на ВПЧ поделены на 3 группы: ВПЧ высокого канцерогенного риска ( $n = 60$ ), низкого канцерогенного риска ( $n = 60$ ), ВПЧ-отрицательный результат ( $n = 60$ ). ВПЧ-тестирование проводили методом ПЦР-РВ. Онкобелок E7 определяли в цервикальных

пробах с использованием набора тест-системы «Онкобелки E7».

**Результаты.** E7-положительные результаты получены в 79,01 % случаев (при положительном ВПЧ). У 29,55 % пациенток с цитологически подтвержденной дисплазией шейки матки I степени онкобелок E7 ВПЧ был отрицательным. Данные результаты могут говорить о том, что ВПЧ находился вне хромосом клетки (эписомальная форма). У пациентов с ВПЧ высокого канцерогенного риска отмечена высокая частота обнаружения положительного онкобелка E7 в сравнении с ВПЧ низкого канцерогенного риска. Данные результаты могут свидетельствовать о большем поражении клеток группы ВПЧ высокого канцерогенного риска. В 3-й группе все результаты были отрицательными.

**Закключение.** У пациенток с РШМ при наличии сопутствующей папилломавирусной инфекции высокого канцерогенного риска отмечается повышенная экспрессия онкобелка E7. Данный результат говорит о том, что уровень E7 является молекулярным маркером, указывающим на агрессивность зарождающегося опухолевого процесса.

### Анализ уровня экспрессии микроРНК в образцах жидкостной цитологии как метод диагностики диспластических изменений в эпителии шейки матки

Д.П. Киселев, Д.В. Бурцев, Т.А. Димитриади  
ГАОУ РО «Областной консультативно-диагностический центр», Ростов-на-Дону;  
ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону  
e-mail: dimas77193@yandex.ru

**Введение.** В последние годы РШМ стал значимой проблемой не только с медицинской, но и с социальной точки зрения. Несмотря на то что цитологическое исследование остается «золотым стандартом» диагностики РШМ, оно имеет ограничения, которые часто приводят к необоснованным конизациям и экзистиям шейки матки, что, в свою очередь, может вызвать осложнения при реализации репродуктивной функции. Поэтому внедрение новых биомаркеров представляет значительное преимущество.

**Цель исследования** — анализ особенностей экспрессии miR-21-5p, miR-29b-3p, miR-145-5p, miR-451a-5p, miR-1246-5p, miR-1290-3p и их целевых генов, а также изучение их ассоциаций в общих сигнальных путях генов в тканях шейки матки у пациенток с дисплазией шейки матки различной степени тяжести.

**Материалы и методы.** Извлечение нуклеиновых кислот из биологического материала включает обработку клеточного осадка лизирующим раствором для разрушения мембран и комплексов ДНК и РНК с белками. Нуклеиновые кислоты адсорбируются

на магнитные частицы, а затем промываются для удаления клеточных компонентов. Обработка элюирующим раствором диссоциирует нуклеиновые кислоты, включая микроРНК, в раствор. Далее проводится обратная транскрипция с микроРНК-специфическим праймером, а затем — ПЦР с 2 микроРНК-специфическими праймерами. Эффективность амплификации оценивается в режиме количественной ПЦР-РВ.

**Результаты.** Исследована группа из 48 пациенток. У 50 % из них наблюдалось совпадение результатов цитологической, пункционной и эксцизионной биопсий, а также уровня экспрессии микроРНК. У 31,3 % (15 из 48) пациенток выявлен уровень экспрессии микроРНК, указывающий на тяжелую дисплазию эпителия шейки матки, что не соответствовало цитологическим заключениям и гистологическому диагнозу. В послеоперационном периоде у этих пациенток наблюдались клинически значимая концентрация ВПЧ и аномальная цитология, что свидетельствует о сохранении патологического процесса после конизации шейки матки, возможно, в верхней трети цервикального канала. В 18,7 % (9 из 48) случаев наблюдались расхождения между цитологическими заключениями и гистологическим диагнозом, а также недооценка тяжести поражений на основе цитологии по сравнению с уровнями экспрессии микроРНК, которые указывали на наличие более серьезных повреждений эпителия.

**Заключение.** Исследование регуляторного потенциала некодирующих микроРНК представляет значительный интерес. Текущие исследования сосредоточены на выявлении различий в их экспрессии, что может помочь объяснить молекулярно-генетическую гетерогенность РШМ и углубить наше понимание механизмов канцерогенеза. Кроме того, микроРНК имеют потенциал стать важным классом биомаркеров.

## Глиальный фибриллярный кислый белок в сыворотке крови больных глиобластомой головного мозга

О.Н. Клейменова<sup>1</sup>, А.А. Алферов<sup>1,2</sup>, А.А. Митрофанов<sup>2</sup>,  
Н.В. Любимова<sup>1,2</sup>, А.Х. Бекашев<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Российский университет медицины»  
Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва  
e-mail: bekyashev@ronc.ru

**Цель исследования** — анализ содержания растворимой формы глиального кислого белка (GFAP) в сыворотке крови пациентов с глиобластомой и определение его прогностической значимости.

**Материалы и методы.** В исследование включены 178 больных (99 мужчин и 79 женщин) глиобластомой головного мозга в возрасте 18–82 лет, которые получали обследование и лечение в НМИЦ онкологии

им. Н.Н. Блохина в период 2016–2023 гг. У всех установлен диагноз глиобластомы (IV степень злокачественности), который подтвержден морфологическими и молекулярно-генетическими исследованиями. Группу контроля составили 34 здоровых донора (18 мужчин и 16 женщин) в возрасте 19–80 лет, группу сравнения — 31 пациент (26 мужчин и 5 женщин) с черепно-мозговыми травмами разной степени тяжести в возрасте 19–56 лет. Концентрацию GFAP определяли в образцах сыворотки крови у больных глиобластомой до начала лечения, а у пациентов с черепно-мозговой травмой — через 6–8 ч после получения травмы с помощью тест-системы Human GFAP ELISA (Biovendor, Чехия). Данные обрабатывали с помощью программы Statistica 10 (StatSoft) и SPSS (IBM). При сравнении показателей и анализе их взаимосвязей использовали непараметрический критерий Краскела–Уоллиса. Анализ информативности диагностического метода с помощью оценки его чувствительности и специфичности проводили с помощью построения ROC-кривых и вычисления AUC. Анализ общей выживаемости выполняли по методу Каплана–Майера. Сравнение статистической значимости различий между показателями проводили при помощи логарифмического рангового критерия. Различия и корреляции считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** В сыворотке крови здоровых доноров GFAP выявлен только у 8,8 % (3 из 34) обследованных, а медиана его содержания составила 0 нг/мл. У больных глиобластомой GFAP выявлен в 73,6 % (131 из 178) случаев, медиана его содержания составила 0,196 нг/мл. Немного реже (у 20 (64,5 %) из 31 больного) GFAP обнаруживали у пациентов с черепно-мозговой травмой, медиана его содержания составила 0,027 нг/мл. Данные ROC-анализа показали, что для группы больных глиобластомой AUC составила 0,855 ( $p = 0,0001$ ), для пациентов с черепно-мозговой травмой — 0,793 ( $p < 0,0001$ ). Результаты анализа показали, что высокие уровни GFAP ( $> 0,014$  нг/мл) в сыворотке крови больных глиобластомой являются прогностически неблагоприятными, хотя и не достигали статистической значимости ( $p = 0,4$ ). Медиана выживаемости пациентов составила 26,6 мес при содержании GFAP  $< 0,014$  нг/мл, в то время как у пациентов с более высоким содержанием данного белка ( $\geq 0,014$  нг/мл) медиана выживаемости составила только 14 мес.

**Заключение.** GFAP выявлен в сыворотке крови у 73,6 % больных глиобластомой, у 64,5 % пациентов с черепно-мозговой травмой и только у 8,8 % здоровых доноров группы контроля. Концентрация GFAP у больных глиобластомой и пациентов с черепно-мозговой травмой не различалась, но была значимо выше по сравнению с контрольной группой. Уровни GFAP в сыворотке крови больных глиобластомой  $\geq 0,014$  нг/мл связаны с неблагоприятным прогнозом общей выживаемости.

## Циркулирующие опухолевые клетки при раке мочевого пузыря как один из вариантов биомаркеров развития процесса

И.А. Круглова<sup>1</sup>, С.В. Зиновьев<sup>2</sup>, О.В. Уткин<sup>3</sup>,  
А.Н. Денисенко<sup>1</sup>, С.А. Кузнецова<sup>4</sup>, И.В. Гребенник<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ГБУЗ НО «Городская больница № 35 Советского района  
Нижнего Новгорода», Нижний Новгород;

<sup>2</sup>ГБУЗ НО НИИКО «Нижегородский областной клинический  
онкологический диспансер», Нижний Новгород;

<sup>3</sup>ФБУН «ННИИЭМ им. акад. И.Н. Блохина»  
Роспотребнадзора, Нижний Новгород;

<sup>4</sup>ГБУ «НМИЦ детской гематологии, онкологии  
и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России,  
Москва

e-mail: irisha-kruglova@yandex.ru

**Введение.** Результаты современных исследований указывают на выделение циркулирующих опухолевых клеток (СТС) при определенных типах опухолей, причем их число служит независимым прогностическим фактором. Относительно рака мочевого пузыря в настоящее время нет надежных сывороточных маркеров для мониторинга и оценки профилей риска развития уротелиального рака. В ряде исследований предполагается, что обнаружение СТС может коррелировать со статусом заболевания и прогнозом на исходном этапе и ранних стадиях лечения рака.

**Цель исследования** — установить наличие и частоту СТС в периферической крови пациентов с диагнозом рака мочевого пузыря.

**Материалы и методы.** Проанализированы образцы периферической крови 41 пациента с диагнозом рака мочевого пузыря IIb–IV стадий. Забор периферической крови проводился в вакуумные пробирки, содержащие антикоагулянт. СТС выделяли центрифугированием в градиенте плотности в сочетании с микрофлюидной фильтрацией. Цитологические препараты готовили с использованием цитоцентрифуги фирмы Hospitex diagnostics (Италия) и окрашивали по методу Романовского. Подсчет СТС проводили с использованием микроскопа Zeiss Primo Star (Carl Zeiss, Германия). В качестве конечного показателя использовали общее число обнаруженных клеток. Контрольную группу составили образцы периферической крови 10 пациентов, не страдавших раком.

**Результаты и обсуждение.** СТС выявлены в 46,3 % случаев (19 образцов), 1–14 клеток в образце. Морфологически первичные опухоли классифицированы следующим образом: 1 плоскоклеточный рак, 1 аденокарцинома, 17 уротелиальных карцином. По данным анализа числа СТС при различных морфологиях опухолей выявлено 4–6 клеток при плоскоклеточном раке, 6 и 2–14 клеток при уротелиальном раке (2–4 — при II стадии, 7–14 — при III стадии; среднее значение 2,43). В образцах контрольной группы СТС не обнаружены.

**Заключение.** СТС обнаружены у 46,3 % пациентов с раком мочевого пузыря, при этом возможные различия выявлены в зависимости от морфологического подтипа опухоли. Из-за небольшого размера выборки необходимы дальнейшие исследования. Самые высокие показатели СТС наблюдались при уротелиальной карциноме, особенно на поздних стадиях (III–IV).

## Клинико-лабораторная значимость сывороточных уровней клаудина 5 и зонулина при раке яичника

С.Е. Куликова<sup>1</sup>, А.А. Алферов<sup>2</sup>, Ю.С. Кузьмин<sup>2</sup>, Ф.А. Гугнин<sup>1</sup>,  
Д.О. Уткин<sup>1</sup>, Е.С. Герштейн<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГБУЗ «Московская городская онкологическая  
больница № 62 ДЗМ», Москва;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва  
e-mail: esgershtein@gmail.com

**Цель исследования** — сравнительный анализ содержания клаудина 5 и зонулина в сыворотке крови больных РЯ и здоровых женщин, определение их связи с основными клинико-морфологическими характеристиками заболевания и прогнозом.

**Материалы и методы.** В исследование включены 65 больных РЯ и 15 здоровых женщин, составивших группу контроля. Клинический диагноз у всех пациентов подтвержден данными морфологического исследования опухоли согласно Международной гистологической классификации опухолей яичников (ВОЗ, 2019). Среди обследованных были больные с эпителиальным РЯ 3 гистологических типов — серозным (50), эндометриоидным (10) и муцинозным (5). Концентрацию клаудина 5 и зонулина определяли в сыворотке крови с помощью наборов реактивов для прямого ИФА до начала лечения: для клаудина 5 — тест-системы Elabscience (Китай), для зонулина — тест-системы ZONULIN ELISA (Immundiagnostic AG, Германия) в соответствии с инструкциями производителя. Анализ общей выживаемости проводили путем построения кривых дожития по методу Каплана–Майера на всей выборке в целом независимо от гистологического типа опухоли и стадии заболевания.

**Результаты.** Медиана и квартили содержания зонулина в сыворотке крови больных РЯ составили 57,4 (40,1–72,4) нг/мл, что значимо выше, чем в контрольной группе, — 11,4 (8,3–16,0) нг/мл ( $p < 0,0001$ ); для клаудина 5 таких различий не выявлено. Результаты анализа ассоциации содержания клаудина 5 и зонулина в сыворотке крови больных РЯ с клинико-морфологическими характеристиками заболевания показали, что повышение содержания зонулина в сыворотке крови ассоциировано с более распространенной стадией заболевания, большим размером опухоли и наличием регионарных метастазов. Для клаудина 5 отмечены статистически незначимо низкие медианы концент-



раций маркера при серозном РЯ (0,88 нг/мл) по сравнению с эндометриоидным (3,27 нг/мл) и муцинозным (1,43 нг/мл). Для анализа отдаленных результатов лечения (показатели общей выживаемости) методом Каплана—Майера больных разделили на 2 группы сравнения в зависимости от содержания исследованных маркеров выше или ниже медианы. При анализе не выявлено прогностической роли исследованных белков у больных РЯ в сыворотке крови. Однако у пациенток наблюдаются изменения в содержании растворимых форм клаудина 5 и зонулина в крови с некоторыми клиническими и морфологическими показателями, что при дальнейшем изучении может способствовать совершенствованию систем мониторинга клинического течения заболевания.

**Заключение.** Содержание зонулина в сыворотке крови больных РЯ статистически значимо выше, чем в контрольной группе здоровых женщин, в то время как для клаудина 5 таких различий не выявлено. Результаты анализа ассоциации содержания зонулина и клаудина 5 в сыворотке крови при РЯ с клинико-морфологическими характеристиками заболевания показали, что повышение содержания зонулина в сыворотке крови ассоциировано с распространенной стадией заболевания, для клаудина 5 выявлено снижение маркера при серозном РЯ по сравнению с эндометриоидным и муцинозным. В настоящее время не выявлено связи сывороточных уровней зонулина и клаудина 5 у больных РЯ с прогнозом выживаемости, что требует дальнейшего включения большего числа наблюдений.

### Молекулярно-генетические особенности меланомы кожи и эффективность терапии ингибиторами BRAF

Д.С. Кутилин, А.М. Зварич, В.А. Сустретов

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

**Введение.** В мире ежегодно регистрируется около 200 тыс. новых случаев меланомы кожи, 65 тыс. из них заканчиваются летальным исходом. В 2002 г. в клетках меланомы обнаружена высокая частота мутаций в гене *BRAF*, кодирующем протеинкиназу сигнального пути RAS-RAF-MEK-ERK. Большинство мутаций *BRAF* приводят к его конститутивной активации и стимуляции клеточного деления, ингибированию апоптоза и неопластической трансформации. Идентификация мутаций в гене *BRAF* служит показанием к назначению конкурентного ингибитора BRAF — вемурафениба. Однако 5-летняя выживаемость пациентов не превышает 5 %, а стандартная терапия демонстрирует низкую эффективность, что может быть связано с другими молекулярно-генетическими аномалиями.

**Цель исследования** — изучить молекулярно-генетические особенности меланомы кожи, ассоциированные с эффективностью терапии ингибиторами BRAF.

**Материалы и методы.** С помощью подходов биоинформатики (алгоритм GISTIC2) проведен анализ открытых баз данных (TCGA ( $n = 470$ )) для выявления аномального показателя копийности генов при меланоме кожи, ассоциированных с эффективностью терапии. Выявленные локусы валидировали на ДНК, выделенной из парафиновых блоков 317 пациентов с диагнозом меланомы кожи, методом ПЦР-РВ. Для оценки различий использовали критерий Манна—Уитни с поправкой Бонферрони.

**Результаты.** По данным биоинформационного анализа выявлены изменения копийности 4500 генов в 37 участках хромосом. При этом с эффективностью терапии ингибиторами BRAF значимо были связаны локусы *Grb2*, *SOS*, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *MEK*, *MAPK*, *PKA*, *PI3K*, *ACT*. В 2016—2021 гг. в НМИЦ онкологии обследованы 727 пациентов с меланомой кожи (410 — без мутации в *BRAF*, 317 — с мутациями: у 294 — V600E; у 20 — V600K; у 1 — V600R; у 2 — K601E). Из 317 пациентов с мутацией в гене *BRAF* лишь 230 имели клинически значимый ответ на терапию ингибиторами BRAF. Образцы 317 пациентов проанализированы на изменение копийности генов *Grb2*, *SOS*, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *MEK*, *MAPK*, *PKA*, *PI3K* и *ACT* методом ПЦР-РВ. У пациентов с мутацией V600E без ответа на терапию обнаружено увеличение копийности генов *SOS*, *KRAS*, *MAPK* и *PI3K* в 2,9; 2,1; 1,9 и 2,8 раза соответственно.

**Заключение.** Амплификация генов *SOS*, *KRAS*, *MAPK* и *PI3K* может приводить к активации сигнального пути RAS-RAF-MEK-ERK независимо от статуса гена *BRAF*, что делает применение ингибиторов BRAF неоправданным у таких пациентов.

### Рак яичника: растворимые формы рецептора программируемой гибели клетки PD-1 и его лиганда PD-L1 в сыворотке крови больных

Д.Н. Кушлинский<sup>1,2</sup>, Д.А. Пекатунов<sup>1</sup>, И.Б. Рыжовская<sup>1</sup>,  
А.С. Пашковский<sup>1</sup>, Е.Д. Кушлинская<sup>3</sup>, А.В. Веселов<sup>1</sup>,  
К.И. Жордания<sup>4</sup>

<sup>1</sup>КГБУЗ «Краевой клинический центр онкологии», Хабаровск;

<sup>2</sup>КГБОУ ДПО «Институт повышения квалификации специалистов здравоохранения»

Минздрава Хабаровского края, Хабаровск;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России, Хабаровск;

<sup>4</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва

e-mail: n.kushlinsky@ronc.ru

**Цель исследования** — изучение sPD-1 и sPD-L1 в плазме крови больных РЯ с учетом клинико-морфологических характеристик заболевания и прогноза.

**Материалы и методы.** В исследование включены 108 больных РЯ в различных стадиях (средний возраст 54,6 года), получавшие обследование и лечение в Краевом клиническом центре онкологии и НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. Контрольную группу составили 45 здоровых женщин (средний возраст 50,8 года). Морфологическое исследование опухоли проведено у всех больных согласно Международной гистологической классификации новообразований яичников (ВОЗ, 2019). Концентрацию sPD-L1 и sPD-1 определяли в плазме крови до лечения наборами реактивов для ИФА: Human PD-L1 Platinum ELISA, Human PD-1 ELISA kit (Affimetrix, eBioscience, США). Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе ВЕР 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия). Полученные данные обрабатывали с помощью программы GraphPad Prizm 9.0. Оценивали безрецидивную выживаемость (БРВ) независимо от морфологии РЯ.

**Результаты.** Медианы содержания sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови группы контроля составили 43,8 и 60,9 пг/мл, в группе больных РЯ — 47,9 и 40,5 пг/мл соответственно. Концентрации sPD-1 и sPD-L1 у больных РЯ не отличались от группы контроля. Обнаружено статистически значимое повышение sPD-L1 в крови больных РЯ при увеличении критерия Т (с 14,8 пг/мл при Т1 до 48,8 пг/мл при Т3;  $p < 0,0001$ ). Для sPD-1 такой зависимости не выявлено. Отмечена сильная тенденция к различию концентраций sPD-L1 в группах пациенток с критериями N0 и N1 (37,9 и 69,6 пг/мл соответственно;  $p = 0,09$ ). Медианы уровней sPD-1 не отражали критерий N. Медианы содержания sPD-L1 были выше при M1 (80,8 пг/мл) против 39,2 пг/мл при M0, однако эти различия незначимы. Показатели sPD-1 не связаны с критерием M. При анализе ассоциации содержания sPD-1 со стадией заболевания (по FIGO) не выявлено значимых закономерностей, в то время как для sPD-L1 показано его статистически значимое повышение при прогрессии опухолевого процесса. Не установлено ассоциации уровней sPD-1 и sPD-L1 с гистологическим строением опухоли и степенью ее дифференцировки. Пороговым значением концентрации sPD-1 в крови, разделяющим больных РЯ на группы с благоприятным и неблагоприятным прогнозами, оказалось 45 пг/мл. Пятилетняя БРВ в группе больных РЯ с неблагоприятными высокими концентрациями sPD-1 в плазме крови ( $\geq 45$  пг/мл) составила  $57,8 \pm 6,6$  % и была на 20 % ниже, чем у пациенток с низкими ( $< 45$  пг/мл) значениями маркера ( $77,7 \pm 6,4$  %) ( $p < 0,032$  по *log-rank*-тесту) РЯ. Для анализа связи уровней sPD-L1 с БРВ больных РЯ разделили на 2 подгруппы, ориентируясь на выделенное нами пороговое значение маркера, близкое к медиане 41 пг/мл. Различия 5-летней БРВ между указанными группами были статистически значимыми ( $p = 0,018$  по *log-rank*-тесту).

**Заключение.** Уровни sPD-1 и sPD-L1 в крови больных РЯ позволят совместно с клинико-морфологическими характеристиками заболевания уточнить прогноз БРВ.

## Молекулярная диагностика метакронных острых миелоидных лейкозов с применением высокопроизводительного секвенирования

Д.В. Ласточкина<sup>1,2</sup>, А.В. Виноградов<sup>2,3</sup>, И.В. Анисимова<sup>3</sup>,  
Т.С. Константинова<sup>2,3</sup>, С.В. Сазонов<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России», Санкт-Петербург;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург;

<sup>3</sup>ГБУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница № 1», Екатеринбург;

<sup>4</sup>ГБУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург

e-mail: litvinova-dasha174@mail.ru

**Введение.** Современная диагностика ОМЛ позволяет выявлять генетические перестройки, играющие ключевую роль в патогенезе клональной эволюции. Особое значение аберрации имеют при ведении пациентов в процессе терапии и решения вопроса назначения таргетных препаратов.

**Цель исследования** — оценить значимые мутации генетического ландшафта пациента с метакронными ОМЛ.

**Материалы и методы.** Представлен клинический случай метакронных ОМЛ. Диагностика основывалась на клинических данных, результатах общего анализа крови, цитологического и цитохимического исследований костного мозга, иммунофенотипирования. Также выполнены стандартное цитогенетическое исследование, флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH), ПЦР-РВ на специфические хромосомные аберрации и детекция мутаций в 141 гене методом высокопроизводительного секвенирования на автоматическом генетическом анализаторе MiSeqDX.

**Результаты.** Больному К., 53 года, в 2021 г. поставлен диагноз острого промиелоцитарного лейкоза. Методом цитогенетического исследования уточнить вариант кариотипа не удалось. При FISH-анализе 100 ядер сигнал химерного гена *PML/RARA* обнаружен в 90 % клеток. Методом высокопроизводительного секвенирования выявлена мутация с.35G>Т в гене *NRAS*. С применением стандартного протокола терапии достигнута ремиссия, продлившаяся 21 мес. В 2023 г. диагностирован острый миелобластный лейкоз с созреванием (подтип М2). При цитогенетическом исследовании определялся аберрантный кариотип 46, XY,

t(6;11)(q27;q23)/46, XY. С помощью FISH-анализа обнаружен сигнал химерного гена *KMT2A/AFDN*, соответствующего транслокации t(6;11), содержащийся в 80 % клеток. В связи с неблагоприятным прогнозом и отсутствием родственных и неродственных HLA-совместимых доноров пациенту назначено лечение с применением таргетных препаратов. В 2024 г. на фоне резистентного к проводимой ХТ рецидива констатирован летальный исход. Общая продолжительность наблюдения составила 35 мес.

**Закключение.** Описанное клиническое наблюдение определяет важность молекулярно-генетических исследований для ведения пациентов с ОМЛ. Установление значимых aberrаций позволяет использовать персонализированный подход к терапии с применением таргетных препаратов.

### Сравнительный анализ внеклеточных везикул клеток глиобластомы и плазмы крови человека

Е.А. Лузина, Д.В. Молдавский, З.Е. Гилязиева, А.А. Ризванов

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань  
e-mail: luzina2003@inbox.ru

**Введение.** Внеклеточные везикулы (ВВ) представляют собой мембранные сферические органеллы, секретируемые всеми типами клеток. ВВ переносят сигнальные молекулы и играют решающую роль в обеспечении межклеточной коммуникации. Кроме того, ВВ способны проникать через неповрежденный гематоэнцефалический барьер. Опухолевые ВВ переносят белки, которые могут быть биомаркерами исследуемого заболевания. Жидкостная биопсия способствует анализу биожидкостей на наличие специфических белков и нуклеиновых кислот. Таким образом, маркеры, связанные с заболеванием, обнаруживаются в плазме крови, что позволяет установить наличие заболевания у пациента.

**Цель исследования** — сравнить морфологические и молекулярно-генетические особенности ВВ, полученных из клеток глиобластомы и плазмы крови человека.

**Материалы и методы.** Клеточную культуру глиобластомы (U138) выращивали на бессывороточной среде DMEM/F12 в течение 4 дней. Из клеточной линии глиобластомы и крови методами фильтрации и ультрацентрифугирования культуральной среды и плазмы при 100 000 g получены везикулы. Визуализация морфологии ВВ проводилась методом сканирующей электронной микроскопии. Далее изучались потенциальные онкомаркеры *CD9*, *EGFR*, *TNC*, *VAMP8*, *PTTG1*, *LGALS3*. Для этого из полученных везикул выделена РНК, синтезирована комплементарная ДНК, проведен анализ ПЦР-РВ. Везикулы плазмы крови использовались в качестве контроля. Также проводи-

лось исследование на наличие исследуемых белков с помощью проточной цитофлуориметрии.

**Результаты.** Установлено, что везикулы клеток U138 и плазмы крови имеют округлую шероховатую морфологию, между группами не выявлено явных морфологических различий. С помощью ПЦР-РВ показано увеличение относительного уровня мРНК генов *TNC* и *PTTG1* клеток глиобластомы по сравнению с контролем. Результаты иммунофлуоресцентного окрашивания полученных везикул на наличие потенциальных биомаркеров показали, что ВВ, выделенные из клеток глиобластомы, содержали значительно большее число белков *TNC* и *PTTG1* по сравнению с ВВ, выделенными из плазмы.

**Закключение.** Выделены везикулы клеточной культуры глиобластомы и плазмы крови. В 2 группах проведен сравнительный анализ морфологии ВВ и относительного уровня мРНК генов *CD9*, *EGFR*, *TNC*, *VAMP8*, *PTTG1*, *LGALS3*. С помощью иммунофлуоресцентного окрашивания показано, что ВВ клеток U138 содержат потенциальные маркеры глиобластомы — *TNC* и *PTTG1*. В дальнейшем это может использоваться для создания скрининговой платформы данного заболевания.

Работа выполнена при поддержке  
Программы стратегического академического  
лидерства Казанского (Приволжского) федерального  
университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

### Значение молекулярного анализа для диагностики, лечения и прогноза гастроинтестинальных стромальных опухолей

Н.Н. Мазуренко, И.В. Цыганова, В.В. Югай, О.А. Анурова,  
М.П. Никулин

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

Гастроинтестинальные стромальные опухоли — наиболее частые саркомы желудочно-кишечного тракта, большинство из которых экспрессируют антиген CD117 и содержат мутации генов тирозинкиназ *KIT* или *PDGFRA*. Это гетерогенная группа опухолей, различающихся по клиническому фенотипу, генетическим нарушениям и ответу на терапию ингибиторами тирозинкиназ (ИТК).

В целях выявления ГИСО проведен анализ 523 препаратов ДНК из 490 сарком и других опухолей желудочно-кишечного тракта на наличие мутаций генов *KIT*/*PDGFRA*. ДНК выделяли из опухолевых клеток, собранных со срезов операционных биопсий, и подвергали ПЦР и секвенированию по Сэнгеру.

Выявлено 416 ГИСО, из них мутации *KIT* содержали 288 (69,2 %), *PDGFRA* — 53 (12,7 %), причем об-

наружено более 10 мутаций, не описанных ранее. Мутации отсутствовали в 75 ГИСО, при этом 15 опухолей имели ответ на иматиниб как препарат 1-й линии терапии и, по-видимому, отличались низкой частотой мутаций, что не могло быть выявлено секвенированием.

В группу ГИСО дикого типа вошли пациенты с мутациями *BRAF*, нейрофиброматозом 1-го типа (NF-1), дефицитом сукцинатдегидрогеназы (SDH), а также *KIT/PDGFR/BR/SDH WT*. Среди пациентов с дефицитом SDH преобладали молодые женщины, некоторые имели наследственные синдромы (триада Карни, синдром Карни–Стратакиса). Отдаленные результаты лечения (до 20 лет) удалось проследить для 244 пациентов с ГИСО. Наилучшие результаты имели пациенты, получавшие комбинированное лечение (хирургическое + таргетное). Прогноз зависел от размера, митотического индекса и локализации ГИСО, а также варианта мутации генов *KIT/PDGFR*, что определяло чувствительность к ИТК (иматиниб, сунитиниб, регорафениб). Прогноз для пациентов с ГИСО дикого типа или мутацией *PDGFR* был лучше, чем с мутациями *KIT*, причем выживаемость снижалась в ряду: точечные замены в 11-м экзоне > инсерции в 11-м экзоне > делеции в 11-м экзоне > дупликации в 9-м экзоне > замены в 13/17-м экзонах *KIT*. Общая выживаемость пациентов с ГИСО с мутацией *BRAF* или дефицитом SDH была достаточно высокой, хотя опухоли имеют резистентность к иматинибу, для их лечения использовали сунитиниб. Некоторые ГИСО *KIT/PDGFR/BR/SDH WT* могут содержать редкие мутации, поэтому NGS является оптимальным для выявления клинически значимых мишеней и низкой частоты мутантных генов.

Полученные результаты свидетельствуют, что молекулярный анализ необходим для выявления, характеристики и выбора терапии ГИСО, а мутантный статус является одним из факторов прогноза заболевания.

### Разработка метода определения чувствительности клеток рака молочной железы к цисплатину, основанного на быстром флуоресцентном окрашивании сфероидов зондами, специфичными к каспазам 3/7

Ю.П. Маясин, М.Н. Осинникова, Д.В. Осадчая,  
В.С. Дмитриенко, В.В. Соловьева, А.А. Ризванов

Кафедра генетики Института фундаментальной медицины  
и биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский)  
федеральный университет», Казань  
e-mail: mayasin\_yuriy@mail.ru

**Введение.** Несмотря на успехи в терапии онкологических заболеваний, скрининг молекул-кандидатов остается проблемой из-за тестирования на 2D-клеточных культурах. В таких системах молекулы легче проникают в клетки, тогда как в реальных солидных опу-

холях их распространение ограничено. Устойчивость клеток опухоли обусловлена взаимодействием с внеклеточным матриксом и микроокружением. Трехмерные сфероиды, образующие межклеточные контакты и секретирующие внеклеточный матрикс, могут служить лучшей моделью для оценки туморицидов *in vitro*. Традиционные тесты на жизнеспособность ограничены в анализе сфероидов, что требует разработки новых подходов.

**Цель исследования** — оценка возможности применения низкомолекулярных зондов для проточной цитометрии CellEvent для флуоресцентной визуализации апоптоза в сфероидах на примере чувствительности клеток РМЖ линии MCF-7 к цисплатину.

**Материалы и методы.** Клетки линии MCF-7 культивировали в полной питательной среде DMEM с L-глутамином и 10 % бычьей фетальной сывороткой. Для культивирования сфероидов клетки высевали в 96-луночный круглодонный планшет, покрытый 1 % агарозой, по 30 тыс. клеток в лунку со средой с B27, FGF, EGF. Среду меняли каждые 3 дня. На 6-й день в среду добавляли 2, 4, 8, 16, 32 мкМ цисплатина и инкубировали 48 ч соответственно. Отрицательный контроль — интактные клетки MCF-7, положительный — культуры с добавлением DMCO (5 %). После инкубации сфероиды и монослои окрашивали DAPI (20 мкг/мл), SYTOX AADvanced Dead Cell Stain и CellEvent™ Caspase-3/7 Green (1:1000), инкубировали в течение часа. Промывали от несвязавшихся агентов в физиологическом растворе в шейкере-инкубаторе в течение 30 мин. Сфероиды анализировали при помощи конфокальной микроскопии.

**Результаты.** Несмотря на то что линия клеток MCF-7 не экспрессирует каспазу 3, биспецифичность зондов позволяет обойти это ограничение за счет связывания с каспазой 7. Показано, что LC50 для опухолевых клеток в монослое составляет 10,2 мкМ цисплатина, а доля клеток в состоянии апоптоза (активация каспаз 3/7) при увеличении концентрации цисплатина возрастала от 6,7 до 84 %. LC50 для сфероидов составил 28,1 мкМ цисплатина, а доля клеток в состоянии апоптоза варьировала в пределах 1–42,9 %.

**Заключение.** Данная методика продемонстрировала эффективность в отношении флуоресцентной визуализации апоптоза с помощью конфокальной микроскопии и может использоваться для создания ускоренных протоколов оценки чувствительности сфероидов к применяющимся в практике и потенциальным лекарственным молекулам.



## Исследование сигнатур рецидивирующего метастатического колоректального рака

К.В. Огданская

ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов  
им. Патриса Лумумбы», Москва  
e-mail: k.ogdanskaya@mail.ru

**Цель исследования** — выявление транскрипционных маркеров, кандидатов и верифицированных хаб-генов, ассоциированных с KPP.

**Материалы и методы.** Использовались данные сета GSE18105, в котором на 1-м этапе анализировались экспрессионные сигнатуры рецидивирующего метастатического KPP. На 2-м этапе исследования проводилась раздельная проверка прогностической ценности генов, демонстрирующих сверхэкспрессию и ингибирование экспрессии, для KPP в сравнении с другими типами рака с использованием инструмента Survival map GEPIA2. Дополнительно использовался портал Human Protein Atlas для расчета 5-летней выживаемости, получения данных об экспрессии генов на уровне белка и ИГХ-проверки хаб-генов.

**Результаты.** Идентифицировано 12 целевых генов, 2 из которых показали гиперэкспрессию (*BANK1* и *EPB41L4A*), тогда как для остальных 10 было характерно ингибирование экспрессии более чем в 2 раза (*HACD1*, *AREG*, *SOX8*, *MAP9*, *EPDR1*, *MAP7D2*, *FAM3B*, *FZD10*, *SULTIC2*, *PTGS2*). По данным исследования отсутствовала специфичность прогностической ценности генов *BANK1* и *EPB41L4A* (сверхэкспрессия) для COAD. Аналогично проведена проверка прогностической ценности экспрессии панели из 10 генов, показавших ингибирование экспрессии. Из данных анализа следует, что при COAD имела место специфичная корреляция экспрессии генов *PTGS2* с общей выживаемостью.

**Закключение.** Таким образом, характер экспрессии генов *PTGS2* можно рассматривать как прогностический биомаркер метастатического KPP.

## Мутации BRAF при метастатическом немелкоклеточном раке легкого: клиническая реальность

Н.А. Огнерубов

ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия  
непрерывного профессионального образования»  
Минздрава России, Москва  
e-mail: ognerubov\_n.a@mail.ru

**Цель исследования** — изучить ландшафт мутаций в гене *BRAF* при метастатическом НМРЛ в реальной клинической практике.

**Материалы и методы.** С июля 2021 г. по июль 2024 г. молекулярно-генетические исследования проведены ретроспективно у 403 больных НМРЛ I–IV стадий (мужчины — 74 %, женщины — 26 %). Медиана возраста составила 62,3 года, диапазон — 42–81 год. Гистологически у 84 % пациентов выявлена аденокарцинома, у 6 % — плоскоклеточный рак. Молекулярно-генетическая диагностика проводилась с использованием образцов опухолевой ткани с парафиновых срезов.

**Результаты.** Различные драйверные мутации в исследуемой когорте обнаружены у 208 (51,6 %) пациентов. Согласно полученным данным соматические мутации в гене *BRAF* выявлены у 12 (5,8 %) пациентов с метастатическим НМРЛ. В 11 случаях выявлена аденокарцинома, в 1 — плоскоклеточный рак. Диапазон возраста — 59–76 лет, медиана — 65,1 года. Несколько чаще мутации в гене *BRAF* выявлены у мужчин (7 (58,3 %)), чем у женщин (5 (41,7 %)), соотношение 1,6:1. Первичная опухоль располагалась в главных бронхах — в верхней, средней и нижних долях с одинаковой частотой, составив 25 %. Мутации *BRAF* в опухоли гетерогенны и представлены 3 классами. Наиболее распространенной является точечная мутация (T1799A) с заменой аминокислот в кодоне 600 (V600E) — мутации I класса. Они выявлены у 9 (75 %) пациентов: в 6 (66,7 %) случаях — мужчин, в 3 (33,3 %) — у женщин. Мутации, отличные от V600E (II класса), D594H и K601E, обнаружены только у 2 пациентов мужского пола. Одиночная мутация III класса, A598-T599insV, наблюдалась у пациентки 71 года с множественной метастатической аденокарциномой легкого.

В опухоли определена экспрессия лиганда программируемой клеточной смерти PD-L1. Высокий уровень PD-L1 выявлен у 6 (50 %) больных, средний — у 3 (25 %), низкий — у 3 (25 %). Известно, что ингибиторы мутаций *BRAF* I класса обеспечивают знаковый успех в прецизионной терапии НМРЛ.

**Закключение.** Мутации в гене *BRAF* встречаются у 5,8 % пациентов с метастатической аденокарциномой легкого с преобладанием у лиц мужского пола в возрасте старше 65 лет. Мутации I класса V600E являются доминирующими при НМРЛ (75 %). Идентификация мутаций *BRAF* позволяет усовершенствовать известные и разрабатывать новые, более эффективные целевые терапевтические подходы у больных НМРЛ.

## Галектины 1, 3, 4, 7, 9 в сыворотке крови детей с первичными опухолями костей

П.Л. Прищеп, Д.В. Рогожин, А.А. Алферов, Ю.Б. Кузьмин,  
С.Р. Варфоломеева, Н.Е. Кушлинский

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

**Цель исследования** — анализ содержания галектинов 1, 3, 4, 7, 9 в сыворотке крови здоровых детей и больных злокачественными, доброкачественными опухолями костей.

**Материалы и методы.** Обследовали 66 больных различными гистологическими вариантами злокачественных опухолей костей и 25 больных доброкачественными новообразованиями костей, средний возраст общей группы составил 12,3 года. В группу контроля включили 29 здоровых детей, средний возраст составил 13,5 года. У всех пациентов клинично-рентгенологический диагноз новообразования кости подтвержден данными морфологического исследования опухоли согласно Международной гистологической классификации опухолей костей (ВОЗ, 2020). Концентрацию галектинов определяли до лечения в сыворотке крови наборами реактивов для прямого ИФА: Human Galectin-1, -3, -9 Quantikine ELISA (R&D Systems, США) и Galectin-4, -7 Quantikine ELISA (RayBiotech, США) в соответствии с инструкциями производителя. Статистический анализ полученных данных проводили с помощью программы GraphPad Prism 10.0.

**Результаты.** Медиана содержания галектина 3 у здоровых детей группы контроля составила 6,69 нг/мл и была статистически значимо ниже по сравнению с больными злокачественными опухолями костей — 7,94 нг/мл ( $p < 0,05$ ). Медианы концентрации галектина 9 статистически значимо снижены у пациентов с саркомами костей (5,35 нг/мл) и доброкачественными новообразованиями костей (5,40 нг/мл) по сравнению с контрольной группой (7,37 нг/мл;  $p = 0,0001$  и  $p = 0,003$  соответственно). Не наблюдали изменения уровней галектинов 1 и 7 при развитии доброкачественных и злокачественных опухолей костей. Выявлено статистически значимое повышение содержания галектина 3 в сыворотке крови пациентов в случае развития сарком костей, в то время как отмечено статистически значимое повышение концентрации галектина 4 при развитии доброкачественных новообразований костей. Показано, что уровни исследованных галектинов в сыворотке крови не связаны с гистологическим строением опухолей костей. Выявили, что у здоровых детей содержание галектина 9 обратно коррелировало с уровнем галектинов 1 и 7 ( $r = -0,533$ ;  $p = 0,019$  и  $r = -0,473$ ;  $p = 0,041$  соответственно). В группе пациентов содержание галектина 1 положительно коррелировало с уровнем галектина 3 ( $r = 0,360$ ;

$p = 0,004$ ), а уровень галектина 7 — с галектином 9 ( $r = 0,420$ ;  $p = 0,001$ ). Полученные данные свидетельствуют об изменении баланса содержания данных белков при развитии опухолевой патологии костей скелета. Результаты ROC-анализа показали, что определение сывороточных концентраций галектинов 3 и 9 не позволяет использовать полученные данные для диагностики опухолей костей.

**Заключение.** У детей, больных злокачественными опухолями костей, отмечено статистически значимое повышение содержания галектина 3 и снижение галектина 9 в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой. Концентрации галектинов 1, 4, 7 не различались между больными саркомами костей и контролем. Не обнаружено различий в уровнях сывороточных галектинов 1, 3, 4, 7, 9 между различными морфологическими типами сарком костей у детей.

## Зависимость уровня экспрессии длинных некодирующих РНК MLK7-AS1, NCK1-DT, NEAT1 и OIP5-AS1 от лимфогенного метастазирования при светлоклеточном раке почки

И.В. Пронина, Э.А. Брага

ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии», Москва  
e-mail: zolly\_sten@mail.ru

**Введение.** Светлоклеточный почечно-клеточный рак (скПКР) выявляется с частотой до 60–85 % всех видов рака почки, имеет агрессивное течение и высокую частоту метастазирования (25–30 %). Заболеваемость запущенными формами и смертность от скПКР остаются высокими, что приводит к необходимости поиска новых молекулярных маркеров, которыми могут стать днРНК, участвующие в регуляции сигнальных путей в клетках за счет прямого и опосредованного взаимодействия с белками или кодирующими их мРНК.

**Цель исследования** — определение уровня экспрессии днРНК MLK7-AS1, NCK1-DT, NEAT1 и OIP5-AS1 в опухоли и гистологически нормальной ткани при скПКР и анализ возможности использования днРНК в качестве диагностических и прогностических маркеров.

**Материалы и методы.** Исследовали образцы РНК 74 первичных опухолей с подтвержденным диагнозом скПКР и прилежащих нормальных тканей почки, RIN >7 по результатам электрофореза на приборе Qsep1-Plus (BiOptic, Тайвань). Анализ экспрессии проводили методом количественной ОТ-ПЦР. В качестве референсных генов использовали B2M и ACTB. Статистический анализ проводили с применением многофакторного ANOVA-теста. Изменения экспрессии считали значимыми при  $p \leq 0,05$ .

**Результаты.** В суммарном пуле опухоли по сравнению с нормой выявлено снижение экспрессии NCK1-DT в 3,13 раза ( $p = 0,004$ ), но зависимости экс-

прессии от размера опухоли (Т по классификации TNM), лимфогенного (N) или гематогенного (M) метастазирования для данной днРНК не обнаружено. Данные анализа изменения экспрессии в зависимости от размера первичной опухоли (Т) показали, что уровень MLK7-AS1 не менялся при T1, T2 и T3 и снижался в 11,31 раза при прорастании опухоли за пределы фасции Герота (T4). Экспрессия MLK7-AS1 была ниже в T4-опухолях по сравнению с опухолями меньшего размера: T1/T4 — в 8,61 раза, T2/T4 — в 8,29 раза, T3/T4 — в 8,09 раза. Также экспрессия MLK7-AS1 снижалась в 13,14 раза при множественном поражении регионарных лимфатических узлов (норма/N2), в том числе по сравнению с опухолями с отсутствием метастазов в лимфатических узлах (N0/N2 — в 6,56 раза) или 1 пораженным лимфатическим узлом (N1/N2 — в 8,25 раза). При поражении 1 лимфатического узла уровень MLK7-AS1 снижался в опухоли по сравнению с нормой в 6,66 раза. Аналогичные изменения экспрессии наблюдали для OIP5-AS1: норма, T1–3/T4 — в 3,45–4,37 раза; норма, N0–1/N2 — в 3,28–8,40 раза. Значимых изменений экспрессии NEAT1 на имеющейся выборке не выявлено.

**Заключение.** Полученные данные о значимом снижении уровней экспрессии днРНК MLK7-AS1 и OIP5-AS1 при поражении регионарных лимфатических узлов при скПРК позволяют предложить их в качестве маркеров лимфогенного метастазирования при отсутствии возможности оценить регионарные лимфатические узлы (Nx по классификации TNM).

*Исследование выполнено при поддержке  
Министерства науки и высшего образования РФ  
учреждению ФГБНУ «НИИОПП»  
(государственное задание № FGFU-2022-0007).*

## Создание персонифицированного алгоритма ранней диагностики рака шейки матки на основе микробиоты, статуса вируса папилломы человека и мутационного профиля

А.О. Романишин<sup>1</sup>, Е.А. Васильева<sup>1</sup>, Д.С. Каперов<sup>1</sup>,  
В.В. Какоткин<sup>1</sup>, М.А. Агапов<sup>1</sup>, Т.Г. Задоркина<sup>2</sup>,  
Е.В. Семина<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет  
им. Иммануила Канта», Калининград;

<sup>2</sup>ГБУЗ «Центр специализированных видов медицинской  
помощи Калининградской области», Калининград;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва  
e-mail: romanishin.alexander97@yandex.ru

Рак шейки матки уверенно занимает 3-е место среди впервые выявленных онкологических заболеваний в мире [1, 2]. В России заболеваемость РШМ одна из самых высоких в Европе, при этом до 40 % случаев

заболевания выявляются на поздних стадиях, которые с трудом поддаются лечению. Снижение заболеваемости и смертности от РШМ, которое отмечается в развитых странах, в значительной степени является результатом цитологического скрининга с охватом более 80 % женского населения соответствующего возраста.

Один из главных факторов риска РШМ — инфицирование ВПЧ, причем высоким канцерогенным потенциалом обладают 12 типов ВПЧ, а 2 типа — 16 и 18 — обуславливают развитие 70 % всех случаев РШМ [3]. Появляющиеся в последнее время убедительные данные о роли дисбиоза и нарушений состава микробиоты влагалища, а также «скрытых» мутаций в эпителиальных клетках шейки матки в процессах индукции канцерогенеза ставят под сомнение исключительную роль ВПЧ в развитии РШМ.

Проведен анализ более 200 жительниц Калининградской области, который включал помимо рутинных манипуляций (осмотр, жидкостная цитология, анализ на ВПЧ 13 типов) определение микробиоты влагалища, анализ мутаций в генах *BRCA2*, *ERBB2*, *TP53*, *PIK3CA1*, *PIK3CA2*, *FBXW7*, *AKT1*, *KLF5*, *KRAS*, *EP300*, *PLAU*, *PLAUR*, отобранных на основе базы данных ATCG. Комплексное исследование, включающее мутационный скрининг, выполнено нами впервые на российской популяции женщин. У здоровых лиц мутаций не выявлено; в случае неоплазии обнаружены мутации в генах *ERBB2* (22,7 % (23/101)), *TP53* (24,7 % (25/101)), *PIK3CA1* (0,9 % (1/101)). Также у 8 (7,9 %) пациенток с неоплазией присутствуют обе мутации в генах *TP53* и *ERBB2*.

Выполнен многофакторный регрессионный анализ для определения степени влияния следующих факторов: состава микробиоты, типа ВПЧ и наличия мутации перечисленных генов. После предварительного анализа данных выбраны следующие виды микробов: *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Enterobacteriaceae*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis* и *Candida albicans*.

Для построения модели использованы методы регрессионного анализа: наименьших квадратов, случайного леса и опорных векторов. Наиболее значимым фактором развития неоплазии является наличие ВПЧ и мутаций. Эти факторы объясняют около 30 % дисперсии зависимой величины, *p*-значения коэффициентов уравнения <0,01. Полученное линейное уравнение регрессии значимо по критерию Фишера для  $\alpha = 5\%$ . Согласно данным построенной модели, наличие любого из 2 факторов повышает вероятность формирования неоплазии на 35 %. Также рассмотрены квадратичная и бинарная логистическая регрессии, но соответствующие уравнения с  $\alpha = 5\%$  оценены как незначимые.

Для выявления внутренней корреляции факторов рассмотрены различные их комбинации и построены множественные уравнения регрессии. Использование методов машинного обучения показало неустойчивость таких моделей. Тем не менее одновременное наличие

у пациентки мутаций и *Candida albicans* повышает вероятность заболевания неоплазией. Для доказательства данной гипотезы необходимо увеличение объема статистических данных, проект продолжается.

#### Литература

1. Singh D., Vignat J., Lorenzoni V. et al. Global estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2020: a baseline analysis of the WHO Global Cervical Cancer Elimination Initiative. *Lancet Glob Health* 2023; 11 (2):e197–206. DOI: 10.1016/S2214-109X (22)00501-0
2. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2021. 252 с.
3. Rogovskaya S.I., Shabalova I.P., Mikheeva I.V. et al. Human papillomavirus prevalence and type-distribution, cervical cancer screening practices and current status of vaccination implementation in Russian Federation, the Western countries of the former Soviet Union, Caucasus region and Central Asia. *Vaccine* 2013;31(Suppl 7):H46–58. DOI: 10.1016/j.vaccine.2013.06.043

### Сопоставимость количественных показателей экспрессии белка и мРНК прогестероновых рецепторов в культурах опухолевых клеток

И.П. Романов<sup>1</sup>, Т.А. Богуш<sup>1</sup>, А.А. Алимов<sup>2</sup>,  
А.Ю. Кузванова<sup>2</sup>, А.М. Щербаков<sup>1,3</sup>, В.С. Косоруков<sup>1</sup>

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

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

<sup>3</sup>ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков  
им. Г.Ф. Гаузе», Москва  
e-mail: biosophy@yandex.ru

**Введение.** Прогестероновые рецепторы (ПР) участвуют в регуляции пролиферации опухолевых клеток и поэтому могут рассматриваться как значимые маркеры в прогнозе онкологических заболеваний и мишени таргетных противоопухолевых препаратов. Однако вопрос о выборе показателя экспрессии гена (мРНК или белок) при оценке экспрессии опухолевого маркера остается открытым.

**Цель исследования** — оценка конкордантности количественных показателей экспрессии мРНК и белка ПР в культурах опухолевых клеток различной локализации.

**Материалы и методы.** Проведен анализ количественных показателей экспрессии мРНК и белка ПР на 10 культурах опухолевых клеток (T47D, A375, PANC-1, SNU-1, HT-29, OVCAR3, VXP-3, HCC1954, A549, MCF-7) с помощью методов ПЦР-РВ после обратной транскрипции мРНК ПР (ОТ-ПЦР) и проточной

цитофлуориметрии соответственно. Для ОТ-ПЦР использованы наборы MMLV RT kit и 5X qPCRmix-HS SYBR+HighROX (Евроген, Россия). Для проточной цитофлуориметрии использованы первичные антитела к ПР (8757, Cell signaling technology, США) и вторичные — конъюгированные с DyLight 650 (ab98510, Abcam, Великобритания). Экспрессия белка ПР оценена по 3 показателям: уровню — проценту клеток, экспрессирующих ПР; интенсивности — отношению среднего геометрического интенсивности флуоресценции в опытном и контрольном образцах (усл. ед.); индексу — произведению уровня и интенсивности экспрессии ПР, деленному на 100 (усл. ед.). Конкордантность показателей экспрессии мРНК и белка ПР определена путем расчета коэффициента к Коэна.

**Результаты.** Экспрессия мРНК ПР выявлена только в клеточной линии T47D (2917 копий комплементарной ДНК), в то время как белок ПР обнаружен во всех исследованных культурах клеток с диапазоном уровня экспрессии 63–89 %, интенсивности 2,1–12,1 усл. ед. и индекса 1,3–10,8 усл. ед. Рассчитанный коэффициент согласованности результатов исследования (к Коэна) равен 0, что говорит о дискордантности показателей экспрессии мРНК и белка ПР.

**Заключение.** Обнаружена дискордантность показателей экспрессии мРНК и белка ПР в культурах опухолевых клеток различной локализации. Исходя из этого, необходимо поставить вопрос целесообразности определения экспрессии мРНК опухолевого маркера для прогнозирования течения онкологических заболеваний с учетом того факта, что именно белок определяет фенотип клетки и является потенциальной мишенью таргетных противоопухолевых препаратов.

Работа выполнена в рамках НИР ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 2023–2025 гг., № 123021500076-3.

### Изменение уровня активности секреторных белков нейтрофилов при раке молочной железы

А.М. Романчик<sup>1</sup>, Е.И. Белевич<sup>1</sup>, В.И. Прохорова<sup>1</sup>,  
О.А. Грицкова<sup>1</sup>, Н.Н. Ковганко<sup>2</sup>, А.Д., Таганович<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»,  
а/г Лесной, Республика Беларусь;

<sup>2</sup>ГУ «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Республика Беларусь  
e-mail: Roman4ik.am@yandex.ru

**Цель исследования** — изучить уровень активности секреторных белков нейтрофилов миелопероксидазы (МРО) и нейтрофильной эластазы (НЕ) в крови пациентов с РМЖ и клинически здоровых женщин (КЗЖ).

**Материалы и методы.** Использованы образцы крови пациенток с верифицированным РМЖ I–IV стадий



( $n = 60$ ), полученные до начала лечения, и КЗЖ ( $n = 25$ ). Об активности МРО судили по изменению оптической плотности 1 мкМ раствора 5-тио-2-нитробензойной кислоты при  $\lambda = 460$  нм, а об активности NE — по оптической плотности  $p$ -нитроанилина при  $\lambda = 405$  нм. Измерения проводили на микропланшетном фотометре (Bio-Rad Lab). Статистический анализ результатов осуществляли с использованием U-критерия Манна–Уитни при  $p < 0,05$  в программе Statistica 10.0.

**Результаты.** Установлено статистически значимое повышение уровня активности МРО в 2,1 раза ( $p = 0,002$ ) и NE в 2,5 раза ( $p = 0,001$ ) в группе РМЖ по сравнению с группой КЗЖ. Выявлено значимое увеличение активности МРО и NE в зависимости от стадии РМЖ. В подгруппах пациенток с РМЖ на ранних (I, II) стадиях установлено значимое повышение активности МРО ( $p = 0,004$ ;  $p = 0,02$  соответственно) и NE ( $p = 0,02$ ;  $p = 0,003$  соответственно) по сравнению с КЗЖ. Данные анализа концентрации секреторных белков нейтрофилов по ИГХ-подтипам РМЖ показали значимое увеличение уровня активности МРО и NE при люминальном А ( $p = 0,004$ ;  $p = 0,01$  соответственно) и люминальном В HER2-отрицательном ( $p = 0,02$ ;  $p = 0,02$  соответственно) гистологических подтипах РМЖ по сравнению с КЗЖ.

**Заключение.** Выявлено статистически значимое повышение уровня активности МРО и NE в группе пациенток с РМЖ и подгруппах с ранними (I, II) стадиями заболевания, а также в подгруппах пациенток, имеющих люминальный А и люминальный В HER2-отрицательный гистологические подтипы РМЖ, по сравнению с КЗЖ.

## Растворимые формы рецептора программируемой гибели клетки PD-1 и его лиганда PD-L1 при раке молочной железы

С.С. Саламатин<sup>1</sup>, И.В. Бабкина<sup>1,2</sup>, Д.В. Рогожин<sup>2</sup>,  
Д.А. Рябчиков<sup>2</sup>, Е.С. Герштейн<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Российский университет медицины»  
Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва  
e-mail: esgershtein@gmail.com

**Цель исследования** — анализ содержания растворимых форм рецептора программируемой гибели клетки PD-1 и его рецептора PD-L1 в сыворотке крови больных РМЖ.

**Материалы и методы.** Обследовали 77 больных РМЖ с 4 молекулярно-биологическими типами новообразований: люминальным В HER2<sup>-</sup> ( $n = 34$ ), люминальным В HER2<sup>+</sup> ( $n = 11$ ), HER2<sup>+</sup> ( $n = 7$ ) и тройным отрицательным РМЖ ( $n = 25$ ). Средний возраст — 52,3 года. Группу контроля составили 49 здоровых жен-

щин (средний возраст 47,9 года). Концентрации sPD-L1, sPD-1 определяли в сыворотке крови до начала лечения с помощью реактивов для прямого ИФА Human PD-L1 Platinum ELISA и Human PD-1 ELISA kit (Affimetrix, eBioscience, США) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе BEP 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия). Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием GraphPad Prism v.10. При сравнении показателей и анализе их взаимосвязей использовали непараметрические критерии Манна–Уитни, Краскела–Уоллиса, коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Медианы концентрации sPD-L1 у больных РМЖ были значимо выше (49,2 пг/мл), чем в группе контроля (9,2 пг/мл) ( $p < 0,0001$ ), тогда как уровень sPD-1, наоборот, был статистически значимо ниже у больных РМЖ (7,5 пг/мл) по сравнению с контрольной группой (47,1 пг/мл;  $p < 0,0001$ ). Результаты анализа диагностической значимости показали, что при концентрации sPD-1 18,1 пг/мл чувствительность и специфичность метода составляют 98 % (AUC 0,998; 95 % ДИ 0,993–1,000;  $p < 0,0001$ ), что указывает на перспективность дальнейшего изучения этого белка при РМЖ. Для sPD-L1 продемонстрировано, что максимальная чувствительность и специфичность теста (92 и 80 % соответственно) достигаются при пороговом значении 24 пг/мл (AUC 0,954; 95 % ДИ 0,923–0,985;  $p < 0,0001$ ). Показано, что в группе пациентов с HER2<sup>+</sup>-подтипом РМЖ содержание sPD-L1 практически в 2 раза выше по сравнению с другими рецепторными подтипами данного заболевания и в 10 раз выше по сравнению с контрольной группой. При пороговом значении sPD-L1, равном медиане содержания в данной группе пациенток (96,2 пг/мл), чувствительность и специфичность метода составили 86 и 100 % соответственно. По результатам анализа не выявлено корреляций уровней изучаемых белков с клинико-морфологическими характеристиками РМЖ, за исключением прямой ассоциации между содержанием sPD-1 в сыворотке крови и пролиферативным статусом опухоли.

**Заклучение.** Обнаруженные изменения в продукции растворимых форм рецептора sPD-1 и его лиганда sPD-L1 у больных РМЖ могут свидетельствовать об иммуногенности этих опухолей. Анализ sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных РМЖ может быть использован не только в диагностике этих новообразований, но и при мониторинге заболевания при многократном исследовании этих биомаркеров в случае проведения иммунотерапии ингибиторами контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1.

## Герминальные мутации в генах «взрослых» опухолевых синдромов у детей с онкологическими заболеваниями

В.В. Семенова<sup>1-3</sup>, Е.В. Жуковская<sup>2</sup>, И.О. Барина<sup>1</sup>,  
В.М. Козлова<sup>3</sup>, С.Н. Михайлова<sup>3</sup>, А.Ф. Карелин<sup>2</sup>,  
Т.В. Наседкина<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>ЛРНЦ «Русское поле» ФГБУ «НМИЦ детской гематологии,  
онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева»  
Минздрава России, Москва;

<sup>3</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва  
e-mail: mol.gen.imb@gmail.com

**Введение.** По данным литературы, герминальные мутации в генах онкологических синдромов, манифестирующих во взрослом возрасте (*MUTYH*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *CHEK2*, *PALB2*), выявляют у 3 % детей со ЗНО, в 1/3 случаев происходит потеря гетерозиготности в опухоли. Однако вклад этих мутаций в развитие заболевания до сих пор не до конца ясен.

**Материалы и методы.** В ходе генетического тестирования 537 детей со злокачественными и доброкачественными опухолями у 36 (5,3 %) выявлены клинически значимые герминальные варианты в генах «взрослых» онкологических синдромов. Средний возраст детей составил 9,7 года. Диагностированы следующие новообразования: опухоль головного мозга ( $n = 7$ ), нефробластома ( $n = 6$ ), костная саркома ( $n = 5$ ), фиброаденома молочных желез ( $n = 4$ ), острый лимфобластный лейкоз ( $n = 2$ ), рак щитовидной железы ( $n = 3$ ), нейробластома ( $n = 3$ ), опухоль яичника ( $n = 2$ ), герминогенная опухоль ( $n = 2$ ), гепатобластома ( $n = 1$ ). Тестирование проведено путем секвенирования кодирующих областей 415 онкоассоциированных генов (NextSeq, Illumina).

**Результаты.** Патогенные и вероятно патогенные гетерозиготные варианты выявлены в следующих генах: *CHEK2* ( $n = 11$ ), *BRCA1* ( $n = 7$ ), *BRCA2* ( $n = 7$ ), *MUTYH* ( $n = 4$ ), *ATM* ( $n = 3$ ), *RAD51C* ( $n = 2$ ), *PALB2* ( $n = 1$ ), *RAD50* ( $n = 1$ ), *MSH3* ( $n = 1$ ). В 55 % ( $n = 20$ ) случаев они относились к редким вариантам с неизвестной частотой в популяции. У 6 детей выявлены варианты одновременно в 2 генах: *CHEK2* + *PTEN*, *ATM* + *PTEN* (фенотип синдрома Коудена), *BRCA1* + *PDGFRB* (фенотип инфантильного миофиброматоза), *BRCA2* + *WT1* (нефробластома слева), *CHEK2* + *TRIM28* (бilateralная нефробластома), *BRCA1* + *CHEK2* (пилоцитарная астроцитома). В 2 случаях проведено исследование опухолевой ткани. У ребенка с инфантильным миофиброматозом потеря гетерозиготности *BRCA1* не выявлена, обнаружена дополнительная мутация в гене *PDGFRB*. У ребенка с нефробластомой выявлена потеря гетерозиготности гена *WT1*, частота вари-

антного аллеля гена *BRCA2* составила 50 %. В 8 семьях проведено обследование родственников на предмет носительства аналогичных вариантов. В 7 из них один из родителей — здоровый носитель (назначено наблюдение). В 1 семье у мамы РМЖ в 43 года (*BRCA1* с.4327C>T), у бабушки и прабабушки — в 40 и 38 лет соответственно.

**Заключение.** Изучение вклада герминальных мутаций в генах «взрослых» опухолевых синдромов в развитие онкологических заболеваний у детей необходимо для разработки оптимального алгоритма динамического наблюдения в целях раннего выявления ЗНО в детском и подростковом возрасте.

## Клиническая значимость оценки экстранодального распространения метастазов рака молочной железы в подмышечные лимфатические узлы

М.А. Сеньчукова<sup>1,2</sup>, Е.Ю. Зубарева<sup>1,2</sup>, Н.В. Сайдлер<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>ГАУЗ «Оренбургский областной клинический онкологический диспансер», Оренбург  
e-mail: masenchukova@yandex.ru

**Цель исследования** — установить связь между экстранодальным распространением (ЭНР) метастазов РМЖ в подмышечную клетчатку и числом метастазов в подмышечные лимфатические узлы (ПЛУ).

**Материалы и методы.** В пилотное исследование включены 42 пациентки с люминальным А (47,6 %) и люминальным В HER2-отрицательным (52,4 %) подтипами РМЖ, которым на 1-м этапе лечения выполнена радикальная операция (R0) с подмышечной лимфаденэктомией с удалением лимфатических узлов I–II уровней. У 22 пациенток не было метастазов в ПЛУ, у 11 пациенток выявлено 1–2 метастаза, у 9 пациенток —  $\geq 3$ . Образцы ПЛУ исследовали методом ИГХ с использованием антител к цитокератину AE1/AE3. Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения Statistica 12.0.

**Результаты.** Экспрессия цитокератина AE1/AE3 в экстранодальной подмышечной клетчатке выявлена у 11 пациенток с метастазами РМЖ в ПЛУ. При анализе установлено, что ЭНР метастазов РМЖ статистически значимо чаще встречается при наличии метастазов в  $\geq 3$  ПЛУ, чем при метастазах в 1–2 ПЛУ (в 6,1 и 100 % случаев соответственно;  $p = 0,0001$ ), и при наличии лимфоваскулярной инвазии, чем при ее отсутствии (в 0 и 68,8 % случаев соответственно;  $p = 0,007$ ). Значимо чаще ЭНР метастазов РМЖ отмечено при высокой степени злокачественности (G3) РМЖ, чем при средней и (G2) и низкой (G1) (в 0; 26,9 и 50,0 % случаев соответственно;  $p = 0,23$ ).

**Заключение.** Экстранодальное распространение метастазов РМЖ связано с поражением  $\geq 3$  ПЛУ.

Полагаем, что оценка ЭНР выявленных метастазов может способствовать уточнению прогноза заболевания и показаний к подмышечной лимфаденэктомии, особенно при люминальном А и люминальном В подтипах РМЖ, отличающихся наиболее низкой чувствительностью к ХТ.

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

### Показатели аннигиляционной замедленной флуоресценции в опухолевой и неопухолевой тканях и их связь с уровнем синтазы оксида азота при раке молочной железы

М.А. Сеньчукова<sup>1,2</sup>, А.Т. Ишемгулов<sup>2,3</sup>, С.Н. Летута<sup>3</sup>,  
Н.В. Сайдлер<sup>2</sup>, Е.Ю. Зубарева<sup>1,2</sup>

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

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

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет», Оренбург

e-mail: masenchukova@yandex.ru

**Цель исследования** — оценить показатели аннигиляционной замедленной флуоресценции (ЗФ) в опухолевой и неопухолевой тканях и установить их корреляцию с уровнем экспрессии синтазы оксида азота (NOS) при РМЖ.

**Пациенты и методы.** Исследовано 411 образцов (опухоль, края резекции, подмышечные лимфатические узлы) от 248 пациенток с РМЖ, которым была выполнена радикальная операция (R0). Срезы тканей толщиной 3–5 мм окрашивали раствором эритрозина. Кинетику затухания длительной люминесценции эритрозина регистрировали методом флэш-фотолиза. Связь аналоговых измерительных устройств с цифровыми системами обработки данных осуществляли с помощью управляющей схемы. Иммуногистохимически антителами к NOS окрашивали 98 гистопрепаратов (опухоль и края резекции). Для статистического анализа использовали программное обеспечение Statistica 12.0.

**Результаты.** Наиболее значимые различия между опухолевой и неопухолевой тканями продемонстрировали 3 показателя: 1) продолжительность ЗФ, обусловленная синглет-триплетной аннигиляцией ( $3,42364 \pm 3,3488$  и  $7,47826 \pm 7,58757$  соответственно;  $p < 0,00001$ ); 2) продолжительность термоактивированной ЗФ ( $0,34874 \pm 0,9211$  и  $1,98669 \pm 2,07692$  соответственно;  $p < 0,00001$ ); 3) продолжительность фосфоресценции ( $7,29478 \pm 28,2041$  и  $43,58054 \pm 63,98400$  соответственно;  $p < 0,00001$ ). Выраженность экспрессии NOS была статистически значимо выше в ткани опухоли, чем в неопухолевой ткани ( $p < 0,05$ ). Интенсивность окрашивания NOS содержи-

мо просвета сосудов положительно коррелировала с показателями 2 ( $p = 0,0002$ ) и 3 ( $p = 0,0007$ ), а интенсивность диффузного окрашивания NOS стромы опухоли — с показателем 3 ( $p < 0,00001$ ).

**Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о перспективности метода аннигиляционной ЗФ для оценки краев резекции и статуса лимфатических узлов при РМЖ.

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

### Клинико-лабораторное значение растворимых форм рецептора и лиганда контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1 при опухолях костей

Н.Ю. Соколов<sup>1</sup>, И.Н. Кузнецов<sup>2,3</sup>, И.В. Булычева<sup>2</sup>,  
Ю.Б. Кузьмин<sup>2,3</sup>, А.А. Алферов<sup>2,3</sup>, И.В. Бабкина<sup>2,3</sup>,  
Д.В. Рогожин<sup>2</sup>, Е.А. Сушенцов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГБУЗ «Московский многопрофильный научно-клинический центр им. С.П. Боткина» ДЗМ, Москва;

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

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Российский медицинский университет» Минздрава России, Москва  
e-mail: e.sushentsov@ronc.ru

**Цель исследования** — анализ клинико-лабораторного изучения уровней растворимых форм рецептора программируемой гибели клеток sPD-1 и его лиганда sPD-L1 в сыворотке крови больных злокачественными, пограничными и доброкачественными новообразованиями костей, их связь с прогнозом заболевания.

**Материалы и методы.** В исследование включены 155 больных со злокачественными, 22 — с пограничными, 15 — с доброкачественными новообразованиями костей (110 мужчин и 82 женщины) в возрасте 14–74 лет, которые получали обследование и лечение в ММНКЦ им. С.П. Боткина и НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. В контрольную группу вошли 56 здоровых доноров (26 мужчин и 30 женщин) в возрасте 16–67 лет. Наибольшую группу составили пациенты с саркомами костей — остеосаркомой ( $n = 68$ ), хондросаркомой ( $n = 54$ ), саркомой Юинга ( $n = 19$ ), хордомой ( $n = 14$ ). Пограничные опухоли костей были представлены гигантоклеточной опухолью. Содержание sPD-1 и sPD-L1 определяли в сыворотке крови до лечения наборами реактивов для ИФА: Human sPD-L1 Platinum ELISA и Human sPD-1 ELISA kit (Affimetrix, eBioscience, США) в соответствии с инструкциями производителя. Результаты исследования анализировали с помощью математических пакетов Statistica и SPSS.

**Результаты.** Медианы содержания sPD-L1 в сыворотке крови больных с опухолями костей были значимо выше, чем у здоровых лиц группы контроля (22,9 и 9,2 пг/мл соответственно;  $p < 0,0001$ ). Медианы концентраций

sPD-1 в крови больных с доброкачественными (24,8 пг/мл), пограничными (21,7 пг/мл) и злокачественными (23,2 пг/мл) опухолями костей не различались, но были статистически значимо выше, чем в группе контроля (9,2 пг/мл;  $p < 0,001$ ). Неблагоприятный прогноз общей выживаемости отмечен в группе пациентов с саркомами костей при выявлении в сыворотке крови сочетания уровней sPD-1  $\geq 40$  пг/мл и sPD-L1  $\geq 18$  пг/мл по сравнению с прочими сочетаниями маркеров ( $p = 0,018$ ). Показатель 5-летней общей выживаемости в группе больных со злокачественными опухолями костей с прогностически неблагоприятными концентрациями обоих показателей иммунитета (sPD-1  $\geq 40$  пг/мл и sPD-L1  $\geq 18$  пг/мл) составил  $44,3 \pm 11,7$  %, тогда как среди пациентов с прочими сочетаниями маркеров —  $73,6 \pm 7,0$  %. При многофакторном анализе общей выживаемости с учетом различных клинико-морфологических факторов заболевания и концентраций сывороточных показателей sPD-1 и sPD-L1 выявлено, что длительность жизни пациентов статистически значимо определяли показатели иммунитета ( $p = 0,003$ ), морфологический диагноз опухоли ( $p = 0,015$ ) и стадия болезни ( $p = 0,013$ ).

**Заключение.** Концентрации sPD-L1 в сыворотке крови больных с опухолями костей значимо выше, чем у здоровых лиц группы контроля. Медианы уровней sPD-1 в крови больных с доброкачественными, пограничными и злокачественными опухолями костей не различались, но были статистически значимо выше, чем в группе контроля. Неблагоприятный прогноз общей выживаемости отмечен в группе больных со злокачественными опухолями костей при одновременном выявлении в крови sPD-1  $\geq 40$  пг/мл и sPD-L1  $\geq 18$  пг/мл.

### Клиническое течение злокачественных новообразований, ассоциированных с папилломавирусной инфекцией, при различных генетических вариантах вируса папилломы человека

Д. В. Холопов<sup>1</sup>, А. А. Вязовая<sup>2</sup>, А. С. Гладких<sup>2</sup>,  
Л. В. Лялина<sup>2,3</sup>, Э. Э. Топузов<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>ЦАОП Фрунзенского района СПб ГБУЗ «Городская поликлиника № 109», Санкт-Петербург;

<sup>2</sup>ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора, Санкт-Петербург;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург;

<sup>4</sup>СПб ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер», Санкт-Петербург  
e-mail: [Xolopov.D.V@yandex.ru](mailto:Xolopov.D.V@yandex.ru)

**Введение.** Достижения в технологиях секвенирования показали большое генетическое разнообразие ВПЧ, требующее персонализированной оценки его

влияния на течение заболевания и переосмысления общепринятой модели канцерогенеза в целом. Имеются сведения о повышенном риске возникновения РШМ при наличии мутации 350G (L83V) в гене *E6* ВПЧ 16-го типа.

**Цель исследования** — изучить вариабельность нуклеотидных последовательностей онкобелков *E6* и *E7* ВПЧ 16-го типа при различных вариантах клинического течения ВПЧ-ассоциированных ЗНО.

**Материалы и методы.** Проанализирована эффективность лечения и общая 2-летняя выживаемость 40 пациентов с ВПЧ-ассоциированными ЗНО (8 — орофарингеальный рак, 22 — РШМ, 2 — рак вульвы, 8 — рак анального канала) в Городском клиническом онкологическом диспансере за период 2020–2023 гг. До начала лечения из опухолевой ткани каждого пациента проводился забор материала с последующим проведением секвенирования генов *E6* — *E7* ВПЧ 16-го типа по методу Сэнгера. Поиск однонуклеотидных полиморфизмов проводили в сравнении с референсной последовательностью ВПЧ 16 K02718 европейской линии (GenBank).

**Результаты.** У 29 (72,5 %) пациентов с ВПЧ-ассоциированными ЗНО наблюдали полный или частичный ответ на терапию, в 11 (27,5 %) случаях — прогрессирование заболевания. При секвенировании генов *E6*–*E7* ВПЧ 16-го типа выявлен аллельный вариант 350G (L83V) в гене *E6* в 24 (82,8 %) и 10 (90,9 %) образцах пациентов со стабильным течением и прогрессированием заболевания соответственно. При этом у 4 (36,4 %) пациентов с прогрессированием опухолевого процесса ( $p < 0,05$ ) в гене *E6* вируса обнаружены 2 однонуклеотидные замены: 109с/350G (РШМ — 2, рак анального канала — 1) и 257G/350G (РШМ — 1). В 1 образце, полученном от пациентки с прогрессирующим течением РШМ, найдена несинонимическая замена 712A (H51N) в гене *E7*.

**Заключение.** У большинства пациентов с ВПЧ-ассоциированными ЗНО при различных вариантах клинического течения заболевания до начала лечения в гене *E6* ВПЧ 16-го типа выявлен аллельный вариант 350G (L83V). Обнаружение нескольких однонуклеотидных полиморфизмов (включая 350G) в гене *E6* ВПЧ 16-го типа сопровождалось прогрессированием опухолевого процесса.



## Разработка протокола обогащения NGS-библиотек для онкодиагностики

И.К. Шалик<sup>1</sup>, А.В. Вихорев<sup>1</sup>, М.М. Гридина<sup>1,2</sup>,  
О.Б. Науменко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск;

<sup>2</sup>ФГБНУ «ФИЦ «Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск

e-mail: i.shalik@g.nsu.ru

**Введение.** Использование высокопроизводительного NGS позволяет детектировать большое число генетических аномалий, что особенно важно при онкодиагностике, где есть не только драйверные события, но и изменения, связанные с ответом опухолевых клеток на терапию и прогностикой заболевания. Для их корректного анализа зачастую необходим анализ мутаций в нескольких генах. В этом случае полногеномное секвенирование нерационально, для решения таких задач разработан метод целевого секвенирования.

**Цель исследования** — создание эффективного протокола целевого обогащения для применения в клинике с использованием панелей.

**Материалы и методы.** Выбраны экзоны 4 генов в качестве мишени для разработки метода, общий размер целевого участка составил 48000 пар оснований. Поскольку прецизионная медицина для профилирования опухолей требует использования тканей FFPE, то для анализа взята ДНК, выделенная из образцов FFPE-опухолей. Приготовлены библиотеки для NGS с использованием набора KAPA HyperPlus Kit (Roche, Швейцария). На целевые экзоны подобраны последовательности олигонуклеотидов длиной 80 пар оснований. Обогащение путем гибридизации в растворе приготовленных библиотек проводили по разработанному нами, а также коммерческому протоколу. Обогащенные библиотеки секвенировали на платформе Genomind M парными прочтениями длиной 150 пар оснований. Полученные данные анализировали при помощи классического пайплайна для поиска соматических мутаций.

**Результаты.** Образцы, обогащенные по предложенному нами протоколу, имеют покрытие в 6832 раза больше в местах посадки олигонуклеотидов, чем в среднем по остальному геному, а для коммерческого протокола — в 1180 раз. Оценка выявленных мутаций проводилась при помощи инструментов 2Mutect и VEP. В библиотеках, обогащенных экзонами 4 генов по протоколу NSU и сопоставляемому аналогу, все найденные мутации из ДНК 1 образца совпали между собой и с референсом.

**Заключение.** Предложенный нами протокол позволяет эффективно проводить обогащение интересующими генами. Результаты секвенирования показывают высокую точность детекции мутаций. Выбранный подход позволяет задавать любые зоны интереса —

мишени, которые необходимо секвенировать, без изменений протокола пробоподготовки.

## Внеклеточные микроРНК мочи при раке предстательной железы: динамика относительной экспрессии после терапии

Е.В. Шутко<sup>1,2</sup>, Г. Саллум<sup>1</sup>, О.Е. Брызгунова<sup>1</sup>, Е.А. Мурина<sup>1</sup>,  
И.А. Остальцев<sup>3</sup>, С.В. Пак<sup>3</sup>, П.П. Лактионов<sup>1,3</sup>,  
М.Ю. Коношенко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт химической биологии

и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск;

<sup>3</sup>ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина», Новосибирск  
e-mail: katshutko@gmail.com

**Цель исследования** — анализ динамики относительной экспрессии микроРНК в составе 2 фракций мочи — супернатанта и ВВ — у больных РПЖ после лучевой терапии (ЛТ) или радикальной простатэктомии (РПЭ) для поиска маркеров эффективности лечения.

**Материалы и методы.** Образцы мочи 17 больных РПЖ до и после ЛТ и 22 больных РПЖ до и после РПЭ (через 3, 6 мес и 1 год после лечения), а также 18 здоровых доноров получены в НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина. Фракции мочи (супернатант и ВВ) выделены методом агрегации-преципитации с использованием стекловолочнистых фильтров; из полученных фракций далее выделены микроРНК. Данные о пороговых циклах детекции 14 микроРНК, вовлеченных в развитие РПЖ, в образцах доноров получены методом ОТ-ТaqMan-ПЦР.

**Результаты.** Для поиска соотношений микроРНК (парная нормировка), статистически значимо изменивших относительную экспрессию после лечения, использовали дисперсионный анализ повторных измерений. Выявлено 22 и 29 пар микроРНК, изменивших экспрессию после ЛТ или РПЭ соответственно в супернатанте мочи, а также 40 и 22 пары во фракции ВВ. Значимыми критериями для определения наиболее перспективных для оценки эффективности терапии пар микроРНК были признаны статистически значимые различия между уровнями относительной экспрессии микроРНК до терапии и через год после нее, а также изменение направления динамики экспрессии микроРНК к уровню здоровых доноров. Выявлен ряд пар микроРНК как в супернатанте, так и во фракции ВВ мочи, по уровням относительной экспрессии которых спустя год после терапии пациенты с признаками рецидива онкозаболевания (повышенный уровень простатического специфического антигена, вторичные изменения в лимфатических узлах) статистически значимо отличались от остальных. Выявленные закономерности позволяют предположить высокий потенциал микроРНК в качестве маркеров рецидива РПЖ,

что может быть использовано при корректировке терапии после первичного лечения. Во фракции ВВ мочи выявлено большее число прогностически значимых пар, чем в бесклеточной фракции. Кроме того, ряд соотношений микроРНК в ВВ мочи определен как потенциально подходящий для оценки эффективности как ЛТ, так и РПЭ.

**Заключение.** Описана годовая динамика экспрессии микроРНК после РПЭ и ЛТ, выявлены потенциально эффективные прогностические соотношения. Оценка эффективности лечения РПЖ путем анализа относительной экспрессии выявленных пар микроРНК, статистически значимо изменяющих экспрессию после терапии, в перспективе представляет собой ценный клинический инструмент.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 23-25-10026, <https://rscf.ru/project/23-25-10026/>) в рамках поддержанного Правительством Новосибирской области проекта 0000005406995998235120582/№ p-4.5.*

## Метаболические особенности лимфобластоидных и миеломных клеток: сходство и различия

С.С. Шушанов<sup>1</sup>, Ю.Б. Черных<sup>2</sup>, Т.А. Захарова<sup>1</sup>,  
А.Р. Гизатуллин<sup>3</sup>, Н.П. Акентьева<sup>3</sup>

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

<sup>2</sup>ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского», Москва;

<sup>3</sup>ФГБУН «ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН», Черноголовка  
e-mail: sainHershy@yandex.ru

**Введение.** Множественная миелома (ММ) — ЗНО антителиобразующих плазматических клеток, которые развиваются из дифференцирующихся В-клеток, изначально характеризующихся низкой метаболической активностью. Дифференцировка В-клеток в плазматические клетки требует увеличения поглощения глюкозы и синтеза АТФ для подготовки к выработке антител. Аналогично поглощение глюкозы и синтез АТФ могут быть связаны со статусом дифференцировки клеток ММ, а также прогрессированием ММ. Поэтому установление взаимосвязи между статусом дифференцировки клеток ММ и их метаболизмом позволит использовать этот феномен в качестве маркера прогрессирования ММ, что, в свою очередь, позволит прогнозировать общую выживаемость больных ММ.

**Цель исследования** — изучить глюкозозависимый синтез АТФ в клеточных линиях миеломы человека RPMI8226 и H929, а также в лимфобластоидной клеточной линии IM9 с четко установленными критериями их дифференцировки.

**Материалы и методы.** Использованы клеточные линии с установленными критериями их дифферен-

цировки: RPMI8226 (CD138<sup>+</sup>, CD38<sup>++</sup>), H929 (CD138<sup>+</sup>, CD38<sup>+++</sup>) и IM9 (CD138<sup>+</sup>, CD38<sup>-</sup>). Количество АТФ в клетках определяли с помощью люминесцентного анализа флэш-типа.

**Результаты.** Установлено, что скорость синтеза АТФ выше в миеломных клетках RPMI8226 и H929 по сравнению с лимфобластоидными клетками IM9. При этом миеломные клетки RPMI8226 требуют большего количества АТФ по сравнению с H929.

**Заключение.** Миеломные клетки RPMI8226 и H929 в отличие от лимфобластоидных клеток IM9 нуждаются в повышенном энергопотреблении. Различающийся метаболический статус RPMI8226 и H929, при котором одни миеломные клетки требуют большего, а другие меньшего энергопотребления, может диктоваться вариациями их дифференцировки.

## Колоректальный рак и галектины 1, 7, 9 в сыворотке крови больных

Е.Ю. Якунина<sup>1</sup>, С.О. Кочкина<sup>2</sup>, Ю.Б. Кузьмин<sup>2</sup>,  
З.З. Мамедли<sup>2</sup>, Р.А. Зуков<sup>1</sup>

<sup>1</sup>КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского», Красноярск;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва  
e-mail: YakuninaEY@onkolog24.ru

**Цель исследования** — ассоциация уровней сывороточных галектинов 1, 7, 9 с клинико-морфологическими характеристиками и прогнозом КРР.

**Материалы и методы.** В группу больных КРР включили 140 пациентов (средний возраст 60,7 года), в контрольную группу — 20 здоровых доноров (средний возраст 54,7 года). Клинический диагноз у всех пациентов подтвержден данными морфологического исследования опухоли согласно Международной гистологической классификации опухолей пищеварительной системы (ВОЗ, 2019), у всех выявлена аденокарцинома. Концентрацию галектинов определяли в сыворотке крови до лечения наборами реактивов для прямого ИФА: Human Galectin-1, -7, -9 Quantikine ELISA (R&D Systems, США). Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе BEP 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия), данные обрабатывали с помощью программы GraphPad Prism 9.0. Для оценки потенциального влияния различных факторов риска на выживаемость выполняли многофакторный анализ с использованием непараметрической модели пропорциональных рисков Кокса. Различия и корреляции считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Медиана концентрации галектина 9 в группе контроля составила 9,6 нг/мл и была статистически значимо выше, чем в общей группе больных КРР (11,0 нг/мл;  $p < 0,05$ ). Медиана содержания галектина 1 в группе контроля не отличалась от группы

больных КРР (24,8 и 27,8 нг/мл соответственно), что отмечено и для галектина 7 (24,6 и 26,3 пг/мл соответственно). Результаты анализа диагностической информативности исследованных галектинов сыворотки крови с учетом чувствительности и специфичности каждого маркера с помощью построения ROC-кривых и вычисления AUC показали, что в настоящее время галектины 1, 7, 9 не могут быть использованы для диагностики КРР. Выявили ассоциации галектинов с некоторыми клинико-морфологическими характеристиками КРР. Так, например, отметили повышение содержания галектина 9 в сыворотке крови пациентов с метастазами в отдаленных органах и при прорастании

опухолью всех слоев стенки толстой кишки. При этом данные регрессионного анализа уровней исследованных галектинов методом Кокса показали отсутствие прогностической значимости уровней галектинов 1 и 7 у больных КРР. Однако при высоких уровнях галектина 7 наблюдали тенденцию, а для галектина 9 статистически значимо благоприятный прогноз у больных КРР.

**Заключение.** Необходимо продолжить исследование клиничко-лабораторной значимости белков семейства галектинов 1, 7, 9 у больных КРР в сочетании с другими биохимическими маркерами для разработки комплексных диагностических панелей в клинической онкологической практике.

## Секция IV

Молекулярно-биологические подходы  
к противоопухолевой терапииОценка киллерной активности  
NK-клеток на 3D-модели рака молочной  
железы при стимуляции IL-15 и TGFβ

М.М. Абдурахманова<sup>1</sup>, А.А. Леонтьева<sup>2</sup>, А.А. Юрина<sup>3</sup>,  
Т.Н. Беловеж<sup>3</sup>, С.В. Кулемзин<sup>3</sup>, Е.В. Кулигина<sup>1</sup>,  
В.А. Рихтер<sup>1</sup>, А.А. Нуштаева<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>АНОО ВО «Научно-технологический  
университет Сириус», Сочи;

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии  
СО РАН», Новосибирск  
e-mail: m.abdurakhmanova98@gmail.com

**Введение.** Иммуноterapia — современный подход к лечению РМЖ. При разработке и оценке эффективности данного метода важно учитывать опухолевое микроокружение, формирующее иммуносупрессивный статус опухоли. Гетеротипическая клеточная модель РМЖ имитирует микроокружение и является перспективным инструментом для оценки эффективности иммунотерапии.

**Цель исследования** — оценить киллерную активность NK-клеток (естественные киллеры) на клеточной 3D-модели РМЖ при стимуляции цитокинами микроокружения.

**Материалы и методы.** 3D-модели РМЖ получены в двух режимах: монокультуривирование только опухолевых клеток (MCF-7, MDA-MB-231 или SK-BR-3); сокультуривирование клеток опухоли и фибробластов (опухоль-ассоциированных и нормальных). Киллерную активность NK-клеток периферической крови здорового донора (PB-NK) и цитотоксическую активность IL-15 и TGFβ оценивали в системе iCELLigence. Совместное действие NK-клеток и цитокинов на клетки в составе 3D-моделей оценивали методом окраски FDA/PI.

**Результаты.** Фибробласты способствуют агрегации клеток: 3D-модели с нормальными фибробластами формируются быстрее, чем с опухоль-ассоциированными. Скорость формирования 3D-моделей не зависит от времени удвоения клеток.

IL-15 не оказывает цитотоксического действия на адгерентные клетки MCF-7, SK-BR-3 и опухоль-ассоциированные фибробласты. При этом IL-15 ингибирует пролиферацию MDA-MB-231 и нормальные

фибробласты. TGFβ ингибирует пролиферацию клеток MCF-7, SK-BR-3 и нормальные фибробласты, но увеличивает пролиферацию опухоль-ассоциированных фибробластов и MDA-MB-231.

В 3D-моделях IL-15 повышает киллерную активность PB-NK и снижает пролиферативную активность опухолевых клеток. TGFβ не оказывает прямого ингибирующего действия на PB-NK и стимулирует пролиферативную активность клеток MDA-MB-231 в составе как гомо-, так и гетеро- 3D-модели с опухоль-ассоциированными фибробластами, что соотносится с результатами, полученными на адгерентных культурах.

**Заключение.** Клеточная 3D-модель РМЖ — перспективный инструмент для оценки эффективности иммунотерапии и межклеточных взаимодействий в опухоли.

*Работа выполнена при финансовой поддержке  
гранта Университета «Сириус» № 27-03 и в рамках  
ГЗ ИХБФМ СО РАН № 121030200173-6.*

Онколитический вирус VV-GMCSF-Lact  
и рекомбинантный GMCSF в терапии  
иммунокомпетентной модели глиомы

А.Б. Агеенко<sup>1</sup>, Н.С. Васильева<sup>1,2</sup>, А.А. Нуштаева<sup>1,2</sup>,  
А.А. Бывакина<sup>1,3</sup>, В.А. Рихтер<sup>1</sup>, Е.В. Кулигина<sup>1,4</sup>

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

<sup>2</sup>АНОО ВО «Научно-технологический  
университет Сириус», Сочи;

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский  
государственный университет», Новосибирск;

<sup>4</sup>ООО «Онкостар», Новосибирск  
e-mail: a.ageenko@alumni.nsu.ru

**Цель исследования** — изучить действие рекомбинантного вируса осповакцины VV-GMCSF-Lact и рекомбинантных человеческого (hGMCSF) и мышино-го (mGMCSF) GMCSF на глиому GL-261 мыши.

**Материалы и методы.** Оценку секреции hGMCSF клетками, инфицированными VV-GMCSF-Lact, *in vitro* и уровня hGMCSF в плазме крови мышей с подкожно трансплантированной глиомой GL-261 после терапии VV-GMCSF-Lact, hGMCSF и mGMCSF *in vivo* проводили методом ИФА. Иммунофенотипирование лимфоцитов



опухоли, селезенки и крови экспериментальных животных проводили методом проточной цитометрии.

**Результаты.** Результаты, полученные с помощью ИФА, показали, что *in vitro* hGMCSF секретируют только клетки глиом человека и уровень секретируемого hGMCSF прямо коррелирует с чувствительностью клеток глиомы к действию VV-GMCSF-Lact. При этом в плазме крови мышей-опухоленосителей после введения препаратов hGMCSF не детектируется. При оценке популяций иммунных клеток опухолей, органов и крови мышей после терапии VV-GMCSF-Lact, hGMCSF и mGMCSF показано, что у самок в группах, получавших лечение VV-GMCSF-Lact и hGMCSF, уровни Т-регуляторных лимфоцитов опухоли достоверно снижаются в сравнении с контролем ( $p \leq 0,05$ ), а у самцов в группе, получавшей вирусный препарат, отмечалось достоверное снижение популяции M2-макрофагов опухоли относительно контроля ( $p \leq 0,01$ ). При этом содержание в опухоли субпопуляций миелоидных супрессорных клеток не зависело от пола.

**Закключение.** Показано, что терапия онколитическим вирусом VV-GMCSF-Lact достоверно снижает уровни иммуносупрессивных клеток микроокружения опухоли. При терапии VV-GMCSF-Lact, вероятно, необходимо учитывать пол пациента, а также для минимизации воспалительных процессов в опухолевой ткани тщательно подбирать противовоспалительные препараты-компаньоны.

## Наночастицы–динитрозильный комплекс железа для таргетной терапии рака предстательной железы и множественной миеломы человека

Н.П. Акентьева<sup>1</sup>, Н.А. Санина<sup>1,2</sup>, А.Р. Гизатуллин<sup>1</sup>,  
Н.С. Никишина<sup>1</sup>, Ю.А. Антонов<sup>3</sup>, С.С. Шушанов<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН», Черноголовка;

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

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

<sup>4</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва  
e-mail: na\_aken@icp.ac.ru

**Введение.** Актуальность разработки наночастиц для таргетной доставки противоопухолевых препаратов определяется высокой частотой онкологических заболеваний во всем мире, низкой выживаемостью онкологических больных и дорогостоящим лечением этих заболеваний. Кроме того, многие противоопухолевые препараты обладают токсичностью, проявляют побочные эффекты, отличаются плохой растворимостью, низкой проницаемостью в клетку и плохой биосовместимостью.

**Цель исследования** — изучение влияния комплекса наночастицы–динитрозильный комплекс железа на жизнеспособность раковых клеток.

**Материалы и методы.** Наночастицы (хитозан-гиалуроновая кислота) были получены методом ионной желатинизации. Динитрозильный комплекс железа (ДНКЖ7,  $[\text{Fe}(\text{SC}(\text{NHCH}_3)_2)_2(\text{NO})_2] \text{BF}_4$ ) инкапсулировали в наночастицы методом физической ассоциации. Размер наночастиц определяли методом электронной микроскопии и динамического светорассеяния. Для анализа действия комплекса (наночастицы–ДНКЖ7) на жизнеспособность клеток РПЖ (клеточная линия РС-3) и ММ (клеточная линия RPMI8226) использовали флуоресцентный метод (Alamar Assay).

**Результаты.** Результаты исследования показали, что ДНКЖ7 ( $4 \times 10^{-4} \text{M}$ ) в составе наночастиц подавлял жизнеспособность клеток РПЖ в 1,5 раза. Установлено, что ДНКЖ7 ( $4 \times 10^{-4} \text{M}$ ) понижал жизнеспособность клеток ММ в 2,9 раза, а комплекс наночастицы–ДНКЖ7 подавлял жизнеспособность клеток ММ человека в 3,5 раза.

**Закключение.** Таким образом, показано, что комплекс наночастицы–ДНКЖ7 имеет потенциал для таргетной терапии РПЖ и ММ человека.

*Исследование выполнено при поддержке  
Министерства науки и высшего образования РФ  
(государственное задание № 124020500019–2)  
и Минздрава России (№ 2023–0015, № 2023–0009).*

## Дифференцировка стволовых кроветворных клеток у пациентов с гемобластозами

А.А. Актанова, М.В. Быкова, И.П. Скачков, Е.А. Пашкина  
ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической  
иммунологии», Новосибирск  
e-mail: aktanova\_al@mail.ru

**Введение.** Известно, что в здоровых тканях стволовые клетки концентрируются в областях, заполненных кровеносными сосудами и стромальными клетками. Иначе эти области принято называть «нишей стволовых клеток», где происходит поддержание правильного баланса между самообновлением и дифференцировкой стволовых клеток. Одной из таких ниш в организме человека является костный мозг. Считается, что при лейкозах происходит первичное поражение костного мозга, таким образом опухолевые клетки становятся частью ниши стволовых клеток, что обуславливает нарушение функционирования органа. В частности, дисфункция костного мозга может быть связана с тем, что опухолевые клетки способны создавать вокруг себя определенное микроокружение, продуцируя различные гуморальные факторы. Так, например, они секретируют цитокины IL-6, IL-8 и CCL2,

при этом известно, что эти белки оказывают как протуморогенное действие, так и иммуносупрессивное. В настоящее время имеются данные, что стволовые кроветворные клетки в костном мозге имеют тенденцию созреть в иммуносупрессивные фенотипы клеток в ходе развития онкопатологии. Однако направления дифференцировки гемопоэтических стволовых клеток может варьироваться в зависимости от типа и локализации опухолевого процесса. Следовательно, представляется актуальной и научно значимой задачей изучение дифференцировки стволовых кроветворных клеток костного мозга под влиянием «межклеточного диалога» с опухолевой клеткой у пациентов с гемобластомами.

**Цель исследования** — изучение дифференцировки стволовых кроветворных клеток костного мозга под влиянием «межклеточного диалога» с опухолевой клеткой у пациентов с гемобластомами.

**Материалы и методы.** В качестве материала использовались стволовые клетки костного мозга пациентов с гемобластомами и доноров ( $n = 8$ ). Материал был получен после добровольного информированного согласия доноров и пациентов. Методом проточной цитометрии оценивались дифференцировочные маркеры стволовых клеток по следующим маркерам: гемопоэтические стволовые клетки (Lin-CD34+CD38-CD45RA-CD90+), мультипотентные предшественники (Lin-CD34+CD38-CD45RA-CD90-), предшественники лимфоцитов (Lin-CD34+CD38+CD45RA+CD90-), общие миелоидные предшественники и мегакариоцитарно-эритроидные предшественники (Lin-CD34+CD38+CD45RA-CD10-), гранулоциты-моноциты-предшественники (Lin-CD34+CD38+CD45RA+CD10-), предшественники В- и НК-клеток (Lin-CD34+CD38+CD45RA+CD10+). Данные анализировались с помощью Graph Pad Prism 9.0.0 с использованием one-way ANOVA, различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Достоверной разницы в субпопуляционном составе стволовых клеток получено не было, однако наблюдались различия в относительном количестве гранулоцитарно-моноцитарных-предшественников ( $p = 0,06$ ), общих мультипотентных предшественников ( $p = 0,08$ ) и истинных гемопоэтических стволовых клеток в группах пациентов и доноров на уровне тенденции. Интересно, что количество гранулоцитарно-моноцитарных предшественников и гемопоэтических стволовых клеток было ниже у пациентов с гемобластомами, что говорит о различной дифференцировке клеток у пациентов и доноров.

У пациентов с гемобластомами изменяется относительное количество клеток субпопуляционного состава костного мозга, что, возможно, обусловливается влиянием опухолевых клеток на дифференцировку гемопоэтических стволовых клеток.

**Заключение.** Таким образом, в дальнейшем необходимо продолжать исследования в данной области, поскольку характерные изменения пула дифференци-

рованных клеток потенциально могут являться важной составляющей патогенеза, прогноза и лечения пациентов.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 23-25-10099) совместно с Новосибирской областью.*

## Влияние Hsp70 на активацию аутофагии путем регуляции сигнального пути mTOR/AMPK/ULK1 в клетках немелкоклеточного рака легкого

Б.А. Алхасан, Я.А. Гладова, Б.А. Маргулис, И.В. Гужова  
ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург  
e-mail: alhassan.bashar.1994@gmail.com

**Введение.** Механизмы протеостаза, включая молекулярные шапероны (как Hsp70) и аутофагию, все чаще признаются влияющими на различные признаки рака, такие как туморогенез, лекарственная устойчивость и рецидив. Однако точные механизмы, лежащие в основе их координации, остаются не полностью выясненными. Следовательно, понимание как взаимосвязь этих защитных механизмов влияет на биологию клеток НМРЛ является актуальной задачей.

**Цель исследования** — выявить молекулярный механизм взаимной регуляции между Hsp70 и аутофагией в клетках НМРЛ.

**Материалы и методы.** Мы использовали клеточные линии НМРЛ A549 и H1299 дикого типа с пониженной и повышенной экспрессией белка Hsp70. В работе применяли ряд модуляторов активности Hsp70 и аутофагии, а также такие методы, как ПЦР-РВ, иммуноблоттинг и шапероновый ИФА.

**Результаты.** Генетическое или химическое подавление экспрессии Hsp70 активирует аутофагию в клетках НМРЛ, о чем свидетельствует повышенная транскрипция генов и экспрессия белков аутофагии ATG5, Beclin1, преобразование LC3 I в LC3 II и деградации белка p62. Наоборот, когда Hsp70 сверхактивирован, мы наблюдали противоположные эффекты и снижение активации аутофагии. На молекулярном уровне подавление Hsp70 привело к увеличению фосфорилирования AMPK на тирозине 172 и ULK1 на серине 555, что является активирующими событиями для этих протеинкиназ, запускающих активацию аутофагического потока, в то время как снизилось фосфорилирование mTOR на серине 2448, что указывает на его ингибирование. Кроме того, повышение активности аутофагии с использованием ингибитора киназы mTOR рапамицина снизило уровень экспрессии Hsp70, но не повлияло на его шаперонную функцию.

**Заключение.** Активность Hsp70 может регулировать уровень аутофагии в клетках НМРЛ. При его подавле-

нии запускается аутофагия для компенсации его функции и адаптации к стрессу, что в основном обусловлено активацией сигнального пути AMPK/ULK1. Такой молекулярный компенсаторный механизм может указывать на необходимость дополнительно ингибировать аутофагию или AMPK при апробации комбинированной терапии с ингибиторами Hsp70 с целью нарушения адаптации клеток НМРЛ к такой схеме терапии.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 19-74-20161-П).*

### Влияние размера частиц наноразмерных антистоксовых фосфоров на фагоцитоз перитонеальными макрофагами

Д.К. Баушева<sup>1</sup>, А.О. Белотелов<sup>1</sup>, А.В. Звягин<sup>2</sup>, Е.Л. Гурьев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва  
e-mail: bausheva16@mail.ru

**Введение.** Наноразмерные антистоксовые фосфоры (НАФ) — это неорганические фотолюминесцентные наночастицы, способные к ап-конверсии света — процессу преобразования нескольких фотонов с более низкой энергией (большой длиной волны) в один фотон с более высокой энергией (меньшей длиной волны). НАФ обладают специфическими фотолюминесцентными свойствами: устойчивость к фото- и химической деградации, возбуждение длинами волн, попадающими в «окно прозрачности» биоткани, и продолжительная фотолюминесценция со сдвигом в коротковолновую область, что позволяет использовать их как платформу для создания тераностических агентов.

Перитонеальные инъекции в ходе проведенных исследований показывают преимущество перед внутривенными инъекциями, что позволяет предположить опосредованный транспорт наночастиц при помощи перитонеальных макрофагов в перитонеальные опухолевые очаги.

**Цель исследования** — исследование влияния размера частиц НАФ на фагоцитоз перитонеальными макрофагами.

**Материалы и методы.** Модификация поверхности НАФ ( $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Tm}$ ) при помощи сополимера малеинового ангидрида с 1-октадеценем (СМАОД) и полимолочной-когликолевой кислотой (ПЛГА) позволила достичь гидрофильности и биосовместимости частиц. В качестве второго слоя оболочки было выбрано покрытие полиэтиленгликолем (ПЭГ). Гидродинамический диаметр частиц НАФ-СМАОД-ПЭГ и НАФ-ПЛГА-ПЭГ составил ~100 нм и ~750 нм соответственно.

Частицы НАФ-СМАОД-ПЭГ и НАФ-ПЛГА-ПЭГ в количестве 200 мкг вводили мышам линии BalB/C в перитонеальную полость. Через 3 ч путем введения теплого PBS в перитонеальную полость и обратным забором жидкости в шприц выделяли перитонеальные клетки из перитонеальной полости. Полученные из транссудата мышей перитонеальные клетки высевали в лунки 96-луночного конфокального планшета, инкубировали в течение 2 ч (37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ ). Для верификации перитонеальных макрофагов проводилось ИГХ-исследование с антителами CD68 и CD11b. Полученные препараты исследовали методом конфокальной лазерной флуоресцентной микроскопии.

**Результаты.** Результаты исследования взаимного расположения клеток и частиц показали значительно большее накопление мелких частиц НАФ-СМАОД-ПЭГ в перитонеальных макрофагах по сравнению с крупными частицами НАФ-ПЛГА-ПЭГ.

**Заключение.** Полученные данные в результате проведенных исследований показывают преимущество перитонеальных инъекций перед внутривенными, что позволяет предположить опосредованный транспорт наночастиц при помощи перитонеальных макрофагов в перитонеальные опухолевые очаги. На данный момент продолжаются исследования влияния размера наночастиц на эффективность адресной доставки нанок комплексов в перитонеальные опухолевые очаги.

*Работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ (проект FSWR 2023-0032).*

### Предклинические доказательства эффективности ошелачивающей терапии рака

А.А. Богданов, В.С. Бурдаков, Ан.А. Богданов, Н.А. Верлов, 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

**Введение.** Измененный метаболизм злокачественных клеток, даже при нормоксии, включает аэробный гликолиз, что приводит к закислению внеклеточного микроокружения. Это закисленное окружение способствует агрессивным характеристикам опухоли. В то же время измененное кислотно-основное состояние может быть использовано для ошелачивающей терапии с применением буферных агентов.

**Цель исследования** — получение доказательств потенциального противоопухолевого эффекта ошелачивающей терапии с использованием гидрокарбоната натрия ( $\text{NaHCO}_3$ ).

**Материалы и методы.** В исследовании была проведена однократная изолированная перфузия конечно-

сти крысы 4 % раствором  $\text{NaHCO}_3$  с перевитой опухолью лимфосаркомы Плисса ( $n = 6$ ). Также выполнена однократная внутрибрюшинная перфузия у мышей с асцитной формой карциномы Эрлиха 1 % раствором  $\text{NaHCO}_3$  ( $n = 14$ ). Для мышей с перевитой аденокарциномой толстой кишки СТ26 была проведена серия внутрибрюшинных введений 4 % раствора  $\text{NaHCO}_3$  ( $n = 8$ ). В качестве контроля использовались аналогичные процедуры с 0,9 % раствором хлорида натрия и интактные животные с опухолью.

**Результаты.** В модели лимфосаркомы Плисса медиана выживаемости в группе с перфузией 4 % раствором  $\text{NaHCO}_3$  составила 17 сут, в то время как в контрольной группе без перфузии и в группе с физиологическим раствором — 13 сут ( $p < 0,05$ ). Однократная внутрибрюшинная перфузия у мышей с асцитной формой карциномы Эрлиха 1 % раствором  $\text{NaHCO}_3$  значительно увеличила общую выживаемость: 30 дней после инъекции опухолевых клеток против 18 дней в группе, получавшей хлорид натрия, и 14 дней — в группе, не получавшей лечения ( $p < 0,05$ ). Системная терапия мышей с солидной формой аденокарциномы толстой кишки СТ26 не показала разницы в медиане выживаемости; однако у 3 из 8 мышей в группе  $\text{NaHCO}_3$ , выведенных из эксперимента через 7 сут после гибели всех животных в контрольных группах, наблюдалось исчезновение опухолевого узла.

**Закключение.** Полученные результаты подтверждают эффективность ощелачивающей терапии при лечении опухолей. Необходимы дальнейшие исследования для выяснения основных механизмов действия и оптимизации применения этого многообещающего терапевтического подхода.

*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».*

## Оценка эффективности технологии получения биомедицинского клеточного продукта на основе опухолевых инфильтрирующих лимфоцитов из операционного материала 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

**Введение.** Адоптивная клеточная терапия рака с использованием опухолевых инфильтрирующих лимфоцитов (ОИЛ) демонстрирует значительный потенциал даже при резистентных опухолях. Например, при меланоме частота объективных ответов составляет 40–70 %, а среди пациентов с рефрактерной меланомой у 10–15 % наблюдается устойчивый полный регресс.

**Цель исследования** — оценка эффективности разработанной нами первой отечественной лабораторной технологии получения биомедицинского клеточного продукта на основе ОИЛ (БМКП ОИЛ) для лечения пациентов с распространенной меланомой.

**Материалы и методы.** Был получен операционный материал от 12 пациентов. В условиях, способствующих элиминации опухолевых клеток, для каждого образца были получены не менее  $10^5$  жизнеспособных ОИЛ. В процессе активации ОИЛ в качестве фидеров использовали гамма-облученные клетки периферической крови здоровых добровольцев с дозой облучения 50 Гр, после чего добавляли антитело анти-CD3 (ОКТ3) и IL-2. Быструю амплификацию ОИЛ проводили в стандартных культуральных флаконах до достижения клинически значимых количеств жизнеспособных ОИЛ, равных или превышающих  $10^9$  клеток. После этого определяли уровень продукции интерферона  $\gamma$  (ИФН- $\gamma$ ). Затем осуществляли процедуру очистки ОИЛ от компонентов среды культивирования, после чего клетки переносили в инфузионные пакеты с раствором Рингера — получали БМКП ОИЛ. В завершение проводили подсчет и анализ полученных ОИЛ на жизнеспособность и распределение по кластерам дифференцировки.

**Результаты.** Для операционного материала от 10 из 12 пациентов с распространенной меланомой был выполнен полный цикл получения БМКП ОИЛ, в среднем занимавший 7–8 нед. Активность амплифицированных ОИЛ в продукции ИФН- $\gamma$  составила 50–250 пг/мл. Количество ОИЛ в БМКП составило  $(1–23) \times 10^9$  клеток при жизнеспособности более 98 %. Распределение по кластерам дифференцировки в БМКП ОИЛ составило: CD3+ — 85–99 %, среди них CD8+ — 26–95 %, CD4+ — 1–67 %, CD25+FoxP3+ (T-регуляторные клетки) — не более 0,2 %.

**Закключение.** Подтверждена высокая эффективность первой российской лабораторной технологии 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».*



## Натрийзависимый фосфатный транспортер NaPi2b как мишень для терапии рака: влияние мутаций на его распознавание моноклональными антителами

Л.Ф. Булатова<sup>1</sup>, А.Р. Сагдыева<sup>2</sup>, Р.А. Власенкова<sup>1</sup>,  
Т.А. Бугаенко<sup>1</sup>, И.А. Слудзюк<sup>1</sup>, Р.Р. Мифтахова<sup>2</sup>,  
Р.Г. Киямова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательская лаборатория «Биомаркер»,  
Институт фундаментальной медицины и биологии  
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный  
университет», Казань;

<sup>2</sup>Научно-исследовательская лаборатория «Трансляционная  
онкология», Институт фундаментальной медицины  
и биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский)  
федеральный университет», Казань  
e-mail: minigulovalf@gmail.com

**Введение.** Ключевой задачей современной онкологии является поиск эффективных мишеней для терапии злокачественных опухолей. Одним из перспективных кандидатов является натрийзависимый фосфатный транспортер NaPi2b (*SLC34A2*) благодаря высокому содержанию в клетках различных опухолей. Особый интерес вызывает большой внеклеточный домен (ВКД) NaPi2b (188–361 а.о.) с расположенным в нем эпитопом MX35 (311–340 а.о.), против которого разработаны гуманизированные антитела для терапии РЯ, РЛ и других видов рака. Известно, что мутация Т330V в составе эпитопа MX35 препятствует его распознаванию антителами, что может влиять на эффективность терапии, поэтому изучение распространенности этой мутации у пациентов с онкологией является актуальной задачей.

**Цель исследования** — изучение распространенности мутации Т330V и выявление новых мутаций в гене *SLC34A2*, кодирующем ВКД NaPi2b, у пациентов с различными злокачественными опухолями.

**Материалы и методы.** Поиск и оценку распространенности мутаций в гене *SLC34A2* в опухолях 26 различных нозологий проводили методами *in silico* с использованием баз данных TCGA, AACR Project Genie и ICGC. Для экспериментов *in vitro* собрали коллекцию биологических образцов у 66 пациентов с различными ЗНО, включая карциному яичника, гортани, трижды негативный РМЖ, ПКР и саркому. Поиск мутаций проводили с помощью секвенирования геномной ДНК из клеток периферической крови пациентов.

**Результаты.** *In silico* анализ данных секвенирования ДНК из 96 336 образцов опухолевой ткани позволил выявить 66 мутаций (из них 33 функционально значимых) в области ВКД NaPi2b, включая мутацию Т330M в клетках карциномы легкого. В результате секвенирования геномной ДНК выявлена только мутация Т330M в 3 образцах почечно-клеточной карциномы, а также в образцах трижды негативного РМЖ и карциномы яичника. Мутация Т330V, влияющая на рас-

познавание эпитопа MX35, не была выявлена в исследуемой выборке как *in silico*, так и *in vitro*.

**Заключение.** Таким образом, нами выявлена мутация Т330M транспортера NaPi2b у пациентов с различными онкологическими заболеваниями, которая представляет особый интерес в контексте ее возможного влияния на эффективность терапии антителами, направленными на эпитоп MX35, что требует дальнейшего изучения.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ  
(грант № 23-75-01100).

## Влияние pH окружения на радиочувствительность клеток аденокарциномы толстой кишки мыши *in vitro*

В.С. Бурдаков<sup>1,2</sup>, И.А. Кулаков<sup>1</sup>, А.А. Богданов<sup>2</sup>,  
Н.А. Верлов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики  
им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт»,  
Гатчина;

<sup>2</sup>ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-  
практический центр специализированных видов медицинской  
помощи (онкологический) им. Н.П. Напалкова»,  
Санкт-Петербург  
e-mail: a.bogdanov@oncocentre.ru

**Введение.** Исследование радиорезистентности на различных уровнях организации живой материи уже более века является краеугольным камнем не только фундаментальной биологической науки, но и важнейшим объектом изучения в прикладной медицине. Важно отметить, что способы регуляции радиочувствительности на уровне растворов белков и ДНК, клеток и организма в целом, как правило, существенно отличаются друг от друга. К наиболее часто применяемому подходу можно отнести коррекцию уровня кислорода (или оксигенации) и, следовательно, снижение генерации активных форм кислорода на фоне действия ионизирующего излучения. Однако регуляция биофизических параметров среды также может представлять большой интерес в части изменения биологического эффекта действия ионизирующего излучения.

**Материалы и методы.** В настоящем исследовании в качестве модельного объекта были выбраны клетки аденокарциномы толстой кишки мыши СТ26. За 4 ч до облучения клеткам производили замену культуральной среды: группе pH– на стандартную среду, титрованную 5Н раствором соляной кислоты до pH 7,1; группе pH0 на нормальную (pH 7,35); группе pH+ на среду с повышенной до 50 мМ концентрацией бикарбоната натрия (pH 7,6, после 2 ч в 5 % CO<sub>2</sub>). Облучение проводили в гамма-установке РХ-гамма-30 (источник 60Co), мощность дозы 0,98 Гр/мин, клетки облучали дозами от 2 до 10 Гр, после облучения куль-

туральную среду меняли на нормальную. Через 24 ч после облучения клетки рассеивали для проведения дальнейших тестов на 96- и 6-луночные планшеты по  $10^3$  клеток на лунку. На 8-е сутки после облучения проводили метаболический (ресазурин) и клоногенный тесты. Для клеток, облученных дозой 10 Гр, непосредственно после облучения проводили тест ДНК-комет.

**Результаты.** Обработка полученных данных показала, что отличия между группами рН0 и рН– не носят достоверного характера. Группа рН+ показала достоверные отличия в сравнении с группой рН0 (и рН–), так, клоногенный тест для рН0/10 Гр показал летальность 90 % в сравнении с рН0/0 Гр, тогда как летальность 90 % для рН+ была достигнута при облучении 6 Гр. Аналогичные данные были получены для метаболического теста. Анализ ДНК-комет показал, что количество разрывов ДНК при облучении в группе рН+ на 23 % превосходило группы рН0 и рН–, что также говорит о сенсibiliзирующем эффекте, возникающем на фоне прединкубации клеток в условиях повышенного рН среды.

## Получение модели хронического миелоидного лейкоза, резистентного к ингибиторам Bcr-Abl

Ю.Л. Володина<sup>1</sup>, Е.С. Иванова<sup>1</sup>, В.В. Татарский<sup>2</sup>,  
А.А. Штиль<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт биологии гена РАН», Москва  
e-mail: uvo2003@mail.ru

**Введение.** Проблема терапии хронического миелоидного лейкоза (ХМЛ) с помощью таргетных ИТК (прототип иматиниб, мишень Bcr-Abl) — развитие устойчивости, обусловленной мутациями гена *Abl* и/или адаптивным перепрограммированием транскрипции. Установлено увеличение чувствительности клеток ХМЛ к ИТК в присутствии сенексина Б — ингибитора циклинзависимых киназ 8/19, опосредующих перепрограммирование транскрипции.

**Цель исследования** — получить сублинии ХМЛ, устойчивые к PF-114 (вамотиниб, новый ингибитор Bcr-Abl), изучить возможности преодоления устойчивости в комбинации с сенексином Б и оценить чувствительность селектантов к современным клиническим ИТК.

**Материалы и методы.** Клетки линии K562 (Bcr-Abl<sup>+</sup> ХМЛ) культивировали в присутствии возрастающих концентраций PF-114 с сенексином Б или без него. Полученные стабильные сублинии тестировали на способность выживать в присутствии ИТК новых поколений. Цитотоксичность определяли в МТТ-тесте. Клеточный цикл, апоптоз и уровень адапторного белка фосфо-CrkL оценивали в проточной цитофлуориметрии.

**Результаты.** Ступенчатой селекцией получены сублинии K562, пролиферирующие при 10–20 нМ PF-114 ( $5–10 \times IC_{50}$ ). Устойчивость к PF-114 в присутствии сенексина Б не формируется — клетки не пережили концентрацию 4 нМ ( $2 \times IC_{50}$ ). Селектанты представляют собой неоднородные популяции: часть клеток (~20–40 %) гибнет при добавлении свежей порции PF-114, остальные — пролиферируют. Сенексин Б в комбинации с PF-114 увеличивает гибель селектантов, что свидетельствует об эпигенетической составляющей резистентного фенотипа. Развитие устойчивости нарушает важные механизмы цитотоксичности PF-114: сохраняется Abl-зависимое фосфорилирование CrkL и отсутствует задержка клеточного цикла в G1. Из исследованных ИТК (иматиниб, понатиниб, дазатиниб, асциминиб) PF-114-устойчивые селектанты показали выраженную кросс-резистентность к асциминibu — новому аллостерическому ингибитору Bcr-Abl, тогда как к каталитическим ИТК сохранялась чувствительность.

**Заключение.** Получена модель ХМЛ, устойчивого к новому ингибитору Bcr-Abl PF-114, позволяющая изучать механизмы резистентности к ИТК и ее преодоление в комбинациях с ингибиторами перепрограммирования транскрипции.

## Механизмы цитотоксической и противоопухолевой активности производных пирролкарбоксамида

А.Р. Галембикова<sup>1</sup>, С.В. Бойчук<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования»  
Минздрава России, Москва  
e-mail: ailuk000@mail.ru

**Введение.** Поиск новых перспективных противоопухолевых соединений для разработки альтернативных химиопрепаратов, эффективных также в отношении опухолей с химиорезистентностью, является актуальной научно-практической задачей современной медицины.

**Цель исследования** — изучение механизмов цитотоксической и противоопухолевой активности производных пирролкарбоксамида (ПКА).

**Материалы и методы.** Объектами исследования являлись опухолевые клеточные линии человека и мыши, в том числе с признаками химиорезистентности. Цитотоксическая активность была исследована методом MTS. Экспрессию маркеров апоптоза, митоза и белков-регуляторов клеточного цикла определяли методом иммуноблоттинга. Проточная цитофлуориметрия использовалась для исследования клеточного цикла, апоптоза; иммунофлуоресцентная микроскопия и тест на полимеризацию тубулина — для определения влияния исследуемых соединений на процесс поли-

меризации тубулина; молекулярный докинг — для выявления молекулярной мишени исследуемых соединений и мест их специфического связывания. Проведение исследований *in vivo* на ксено- и синографтных моделях (динамика роста опухоли, ИГХ-исследование выделенных опухолей на маркеры апоптоза) позволило оценить противоопухолевый эффект исследуемых соединений.

**Результаты.** В результате скрининга 93 пирролсодержащих гетероциклических соединений было выявлено 3 лидерных соединения: ПКА-61, -84 и -93, обладающих наиболее высокой цитотоксической активностью в отношении большинства исследуемых опухолевых клеточных линий. Данные соединения приводили к гибели опухолевых клеток в результате митотической катастрофы. К задержке клеток в М-фазе приводила способность ПКА предотвращать полимеризацию тубулина. Методом молекулярного докинга было предсказано, что основным сайтом связывания для ПКА-61 и -84 является колхициновый домен молекулы тубулина. Результаты исследований на ксено- и синографтных моделях показали высокую противоопухолевую эффективность исследуемых соединений.

**Закключение.** ПКА-61, -84 и -93 обладают высокой цитотоксической и противоопухолевой активностью благодаря селективному связыванию с тубулином на колхициновом сайте и предотвращению последующей сборки тубулиновых микротрубочек, что приводит к задержке клеток в М-фазе клеточного цикла и инициации программы апоптоза.

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

## Модификация линий аденокарциномы легкого A549 с помощью нокаута *STK11* для изучения эффективности терапии частицами

Е.А. Ганцова<sup>1</sup>, К.М. Шакирова<sup>1,2</sup>, К.Б. Гордон<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>НИИ молекулярной и клеточной медицины  
ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов  
им. Патриса Лумумбы», Москва;

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

<sup>3</sup>МРНЦ им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии»  
Минздрава России, Обнинск  
e-mail: gantsova\_ea@pfur.ru

**Введение.** В настоящее время применяются новые подходы к лечению социально-значимых заболеваний, таких как РЛ, распространенность которого у мужчин занимает 1-е место в России и 10-е — у женщин. Терапия частицами является прогрессивным методом облучения опухолей. В настоящее время применяются фотоны, протоны и карбон-ионы. При возникновении мутаций в клетках опухоли возможно приобретение резистентности к такому виду терапии. Например,

мутацию в гене серин-треониновой киназы *STK11* связывают с более агрессивным течением опухоли и устойчивостью к терапии частицами.

**Цель исследования** — получить модель *in vitro* нокаута гена *STK11* на клеточной линии аденокарциномы человека A549 для дальнейшей оценки ее чувствительности к терапии частицами.

**Материалы и методы.** Для создания нокаутующей генделяции использовали систему геномного редактирования CRISPR/Cas9. Для создания значащей делеции подбирали пары sgRNA (single guide RNA) так, чтобы расстояние между ними было около 300 п.н. и не было кратно трем. Компоненты системы — две sgRNA и Cas9 — доставляли в клетки в составе плазмид pU6-sgRNA и pCas9-IRES-eGFP соответственно. Для создания делеции в популяции клетки трансфецировали с помощью электропорации смесью pCas9-IRES-eGFP и sgRNA1 и sgRNA2. В качестве репортерного гена использовали зеленый флуоресцентный белок eGFP и отбирали положительную популяцию методом сортировки клеток с активированной флуоресценцией на приборе BD FACSAria III.

**Результаты.** Отсортированные клетки проходили этап предельного разбавления и экспансии клонов. Клоны-потомки одной клетки в дальнейшем анализировались методом ПЦР с помощью праймеров hSTK11 на наличие делеции в целевом гене.

**Закключение.** В результате получили линии клеток, несущие разнообразные делеции в кодирующей части гена *STK11*, что позволяет использовать эти модели для дальнейшего исследования чувствительности к терапии частицами.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 24-45-00031).*

## Ингибирование аутофагии, вызванной декурсином, через PERK-зависимую ось реакции развернутого белка в клетках глиомы

И.Ф. Гареев<sup>1</sup>, С.А. Румянцев<sup>2</sup>, В.П. Чехонин<sup>2</sup>, Da-Yong Han<sup>3</sup>

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

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

<sup>3</sup>Первый аффилированной госпиталь Харбинского  
медицинского университета, Харбин, Китай  
e-mail: ilgiz\_gareev@mail.ru

**Введение.** Было показано, что декурсин, кумариновое соединение, выделенное из *Angelica gigas*, обладает противоопухолевой активностью.

**Цель исследования** — изучение цитотоксичности декурсина на клетки глиобластомы. Поскольку путь PERK-eIF-2α тесно связан с пролиферацией, аутофа-

гией, ангиогенезом и химиорезистентностью, мы планировали выяснить, участвует ли путь PERK-eIF-2 $\alpha$  в аутофагии в процессе воздействия декурсином.

**Материалы и методы.** Клеточные линии глиобластомы человека U251 были получены из Китайской инфраструктуры ресурсов клеточных линий (Национальной научно-технической инфраструктуры, NSTI). Был проведен анализ жизнеспособности клеток и образования клонов с помощью МТТ-теста. Вестерн-блоттинг был выполнен для изучения путей аутофагии. Данные независимых экспериментов показаны как средние значения  $\pm$  стандартные отклонения (SD). Статистический анализ между двумя группами проводился с помощью t-критерия Стьюдента (двустороннего), а среди нескольких групп — с помощью однофакторного дисперсионного анализа с использованием SPSS версии 18.0 (IBM Analytics, США). Значение  $p < 0,05$  считалось статистически значимым.

**Результаты.** Культивируемые линии клеток U251 подвергались воздействию указанных концентраций декурсина в течение 24 ч или 48 ч. Результаты анализа МТТ-теста показали, что декурсин значительно снижал жизнеспособность клеток в зависимости от дозы по сравнению с контрольными образцами клеток, обработанными диметилсульфоксидом. Значения IC<sub>50</sub> декурсина через 24 и 48 ч составили 128,6 и 92,58 мкМ соответственно. Эти результаты указывают на то, что декурсин проявляет цитотоксичность и ингибирует рост опухолевых клеток. Путь PERK-eIF2 $\alpha$  является важным элементом аутофагии во время стресса, благодаря индукции активирующего фактора транскрипции 4 (ATF-4). Чтобы оценить влияние декурсина на путь фосфорилирования PERK-eIF2 $\alpha$ , мы исследовали экспрессию ATF-4 с помощью вестерн-блоттинга. В результате наблюдали, что фосфорилирование PERK снижается при увеличении дозы декурсина. Аналогичным образом мы наблюдали, что экспрессия ATF-4 увеличивается после обработки декурсином.

**Заключение.** Декурсин может стать полезным терапевтическим выбором при лечении глиобластомы.

## Иммуномодулирующие взаимодействия между раковыми и иммунными клетками при гормонположительном HER2-отрицательном люминальном В и тройном негативном подтипах рака молочной железы

Р. А. Глушак<sup>1</sup>, О. А. Ракитина<sup>1</sup>, С. А. Кондратьева<sup>1</sup>,  
И. В. Алексеенко<sup>1</sup>, Л. Г. Жукова<sup>2</sup>, Д. А. Дидыч<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГНЦ ФГБУН «Институт биоорганической химии им. акад. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН», Москва;

<sup>2</sup>ГБУЗ «Московский клинический научный центр им. А. С. Логинова ДЗМ», Москва  
e-mail: roma272731@mail.ru

**Введение.** Подтип люминальный В РМЖ — крайне гетерогенный рак, при котором гистологические характеристики и прогноз для пациентов значительно различаются. Известно, что гормонположительный HER2-отрицательный люминальный В субподтип РМЖ имеет клиническое сходство с тройным негативным подтипом и в ряде случаев характеризуется агрессивным течением заболевания с быстрым прогрессированием. Так как взаимодействия раковых и иммунных клеток играют важную роль в подавлении противоопухолевого иммунного ответа, определение возможных лиганд-рецепторных взаимодействий в опухолях может лечь в основу разработки новых иммунотерапевтических препаратов.

**Цель исследования** — провести поиск возможных внутриопухолевых межклеточных взаимодействий с высоким терапевтическим потенциалом с использованием транскриптомного анализа экспрессии генов лигандов и их рецепторов в раковых и иммунных популяциях клеток при гормонположительном люминальном В (HER2-/Ki-67 >40 %) и тройном негативном подтипах РМЖ.

**Материалы и методы.** Забор опухолевых биоптатов проводился в Московском клиническом научном центре им. А. С. Логинова. Все пациенты дали информированное согласие на участие в исследовании. Биоптаты обрабатывали коллагеназой D, проводили иммунофенотипирование раковых (EpCAM+) и иммунных (CD45+) клеток с последующей FACS-сортировкой целевых популяций клеток. Из собранных клеток были приготовлены библиотеки кДНК, которые секвенировали на платформе Illumina.

**Результаты.** Анализ экспрессии генов иммуномодулирующих лигандов и их рецепторов указывает на преобладание в исследуемых опухолях иммуносупрессивных взаимодействий, в отличие от иммуноактивирующих. При этом спектр возможных иммуносупрессивных взаимодействий при тройном негативном подтипе РМЖ существенно шире, чем в исследуемом субподтипе люминального В РМЖ. Сопоставление найденных генов с известными мишенями медицин-



ских препаратов позволило аннотировать взаимодействия с высоким терапевтическим потенциалом для исследуемых подтипов РМЖ. Кроме того, анализ активности генов иммуноактивирующих рецепторов в иммунных CD45+ клетках выявил лиганды с потенциалом использования в генной терапии РМЖ для активации противоопухолевого иммунного ответа.

**Заключение.** В работе определены терапевтические гены-кандидаты лигандов и рецепторов, активные в клетках опухолей при гормонположительном люминальном В (HER2-/Ki-67>40 %) и тройном негативном подтипе РМЖ. В дальнейшем будет проведена валидация найденных лиганд-рецепторных взаимодействий на белковом уровне.

*Исследование выполнено при поддержке гранта Правительства Москвы (проект № 0903-2/22).*

## Роль транслугтаминазы 2-го типа в опухолеобразовании аденокарциномы легкого

Ю.А. Гненная<sup>1</sup>, А.А. Дакс<sup>1</sup>, О.Ю. Шувалов<sup>1</sup>, Н.А. Барлев<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>Назарбаев Университет, Астана, Казахстан

e-mail: gnenpaya1996@mail.ru

**Введение.** НМРЛ по-прежнему остается одной из ведущих причин смертности во всем мире. В настоящее время комбинированная схема САВ является стандартным методом лечения пациентов с распространенным НМРЛ, однако существует вероятность возникновения эффекта множественной лекарственной устойчивости. При наличии молекулярных маркеров, связанных с лекарственной резистентностью, возможны отбор пациентов-кандидатов или меры по повышению чувствительности клеток к ХТ. Известно, что многофункциональный фермент тканевая транслугтаминаза типа 2 (TG2) участвует в патогенезе ряда неопластических и фибропролиферативных заболеваний, включая злокачественные опухоли легкого. Недавно сообщалось, что TG2 участвует в возникновении устойчивости клеточных линий РМЖ к доксорубину. Кроме того, было показано, что TG2 ингибирует индуцированный цисплатином апоптоз в клетках РЯ, что указывает на возможное участие TG2 в регуляции механизма проникновения и распределения химиотерапевтических препаратов.

**Цель исследования** — изучение механизма TG2-опосредованной лекарственной устойчивости в контексте канцерогенеза легких.

**Материалы и методы.** В рамках проекта были созданы изогенные аденокарциномические клеточные линии с различным статусом TG2 и онкосупрессора p53 (дикий тип/мутант) для исследования влияния фермента на сенсibilизацию клеток к доксорубину.

Исследования проводились с помощью биологических методов для анализа количественной и качественной оценок изменений уровней белков (количественная ПЦР, вестерн-блоттинг), а также для оценки влияния TG2 на сенсibilизацию полученных линий (МТТ, colony assay) и динамику вкачивания/выброса доксорубина (проточная цитометрия) в клетках исследуемых линий.

**Результаты.** Методом Co-IP было показано, что TG2 связывается с p53 дикого типа. Снижение количества фермента в клетках способствует сенсibilизации полученных линий к обработке генотоксическими препаратами, что коррелирует со стабилизацией только p53 дикого типа. В клетках, нокаутных по TGM2, снижается скорость накопления доксорубина при отсутствии снижения скорости транспорта прижизненного красителя Hoechst 33342.

**Заключение.** Различный статус TG2 не только влияет на выживание и пролиферацию полученных линий, но и специфически опосредует транспорт доксорубина в клетках, что в совокупности обуславливает общую антиапоптотическую роль TG2.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 24-75-10103).*

## Сравнительный анализ аффинности малых молекул к глюкокортикоидному рецептору *in silico* и *in vitro*

К.В. Гордеев<sup>1</sup>, Е.М. Жидкова<sup>2</sup>, Г.А. Бадун<sup>3</sup>,  
М.Г. Чернышева<sup>3</sup>, А.Д. Еникеев<sup>2</sup>, А.В. Матвеев<sup>4</sup>,  
Е.А. Михина<sup>4</sup>, Е.С. Олейник<sup>4</sup>, М.Г. Якубовская<sup>2,5</sup>,  
Е.А. Лесовая<sup>2,5,6</sup>

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

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

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

<sup>4</sup>ФГБОУ ВО «МИРЭА — Российский технологический университет», Москва;

<sup>5</sup>ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва;

<sup>6</sup>ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова»

Минздрава России, Рязань

e-mail: e.zhidkova@ronc.ru

**Введение.** Глюкокортикоиды (ГС) являются частью стандартной терапии гематологических новообразований. Противоопухолевое действие ГС реализуется за счет связывания с глюкокортикоидным рецептором (GR) по двум механизмам: транспрессии (подавлению активности факторов транскрипции) и трансаактивации (связыванию GR с ДНК и запуску транскрипции ряда генов). Терапевтическое действие GR опосредовано транспрессией, развитие побочных эффектов —

трансактивацией. Отдельным направлением исследований является разработка селективных агонистов GR (SEGRA), запускающих только механизм трансрепрессии. Соединение CpдA представляет собой SEGRA с описанной противоопухолевой активностью. Однако CpдA нестабилен и разлагается до канцерогена фенилазиридина, что делает невозможным дальнейшие трансляционные исследования. Продуктом дальнейшего разложения CpдA является синефрин, для которого также показана противоопухолевая активность *in vitro*. Высокая стабильность и схожесть структуры с молекулой CpдA послужила причиной выбора синефрина в качестве основы для синтеза потенциальных SEGRA.

**Цель исследования** — оценка и сопоставление результатов аффинности к GR для 26 производных синефрина в экспериментальных системах *in vitro* и *in silico*.

**Материалы и методы.** Аффинность *in silico* анализировали методом молекулярного докинга в пакете программ Molegro Virtual Docker 6.0. Структуры лигандов оптимизировали с использованием редактора Avogadro 1.2.0. Структура GR получена из базы ProteinBank. Докинг осуществляли в отношении лигандсвязывающего домена, используя дексаметазон в качестве референсного лиганда. Для подтверждения аффинности лигандов к GR использовали радиолигандный метод с использованием культуры клеток острого лимфобластного лейкоза.

**Результаты.** По результатам молекулярного докинга, наибольшее потенциальное сродство к GR было показано для производных 8S-E3 (1-(4-(бензилокси)фенил)-2-((2-гидроксиэтил)амино)этанол) и 10S-E2 (1-(4-(бензилокси)фенил)-2-((2-гидроксигексил)амино)этанол). Оба соединения занимают стерически выгодный участок в области аминокислотных остатков Thr739, Asn564 и Gln642, по которым преимущественно связывается дексаметазон. В экспериментах *in vitro* наибольшая аффинность к GR, сравнимая с дексаметазоном и CpдA, была также показана для соединений 8S-E3 и 10S-E2.

**Заключение.** Метод оценки аффинности потенциальных SEGRA к GR *in silico* апробирован и валидирован данными, полученными радиолигандным методом *in vitro*.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ  
(грант № 23-15-00321).

## Исследование противоопухолевого эффекта дендритных клеток, загруженных мембранными везикулами из клеток опухоли молочной железы *in vitro*

А.В. Городилова, М.Н. Осинникова, Ч.Б. Харисова,  
Ю.П. Маясин, К.В. Китаева, И.Ю. Филин, В.В. Соловьева,  
А.А. Ризванов

Кафедра генетики Института фундаментальной медицины  
и биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский)  
федеральный университет», Казань  
e-mail: anagorodilova@yandex.ru

**Введение.** Дендритные клетки (ДК) — антигенпрезентирующие клетки, являющиеся центральным звеном в активации эффекторных Т-клеток. Вакцины на основе ДК, обладающие низким токсическим эффектом и способностью продления срока ремиссии, представляют перспективный подход в качестве адъювантной терапии онкологических заболеваний.

**Цель исследования** — исследование способности ДК, загруженных индуцированными мембранными везикулами (иМВ), выделенных из биопсийного материала пациента, индуцировать апоптоз в первичной культуре опухолевых клеток (пОК) РМЖ, клеточной линии MCF-7, а также фибробластов человека.

**Материалы и методы.** Мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК) человека выделили путем центрифугирования в градиенте плотности фикола. Из полученной фракции клеток выделили CD14+ моноциты путем адгезии к поверхности культурального планшета. Дифференцировка моноцитарных ДК (моДК) проводилась в течение 7 дней путем добавления цитокинового коктейля. иМВ выделяли из пОК РМЖ, выделенной из биопсийного материала пациента и клеточной линии MCF-7 при помощи цитохалазина В. иМВ добавляли к моДК и инкубировали в течение 48 ч, после чего свежее выделенные МКПК добавляли к зрелым моДК для антигенпрезентации. Совместное культивирование моДК и МКПК происходило в течение 7 дней, после чего активированные Т-клетки добавляли к пОК, MCF-7 и фибробластам для кокультивирования в течение суток. Цитотоксическую активность Т-киллеров оценивали при помощи теста на апоптоз (Аннексин V) методом проточной цитофлуориметрии.

**Результаты.** Согласно полученным данным процент жизнеспособной популяции в клеточной линии MCF-7 при культивировании с МКПК, не прошедшими антигенпрезентацию, отличается от контрольной группы клеток на 12 %. Тогда как клетки, культивируемые с МКПК, активированные моДК+иМВ-MCF-7, показали отличие на 23 % от контроля. У пОК, культивируемой с неактивированными МКПК, доля жизнеспособной популяции не отличается от контрольной

группы клеток, тогда как у клеток, культивируемых с МКПК, активированными моДК+иМВ-пОК, этот показатель увеличился до 10 %.

**Закключение.** В ходе анализа было показано, что отличий от контрольной группы клеток во всех образцах не выявлено. Полученные данные свидетельствуют о потенциальном преимуществе данного опухоль специфического антигена как перспективного иммуномодулирующего агента для активации моДК, а также о потенциальном использовании вакцин на основе ДК в качестве безопасной терапии при лечении онкологических заболеваний.

### Эффективность химиотерапии в зависимости от полиморфизма генов *GSTT1* и *GSTM1* при раке молочной железы

И.С. Гулян<sup>1,2</sup>, Е.В. Елисеева<sup>1</sup>, В.И. Апанасевич<sup>1</sup>,  
Г.С. Гулян<sup>2</sup>, Е.В. Худченко<sup>3</sup>

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

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», Владивосток;

<sup>3</sup>ГБУЗ «Приморский краевой онкологический диспансер»,  
Владивосток  
e-mail: isabella.g@mail.ru

**Цель исследования** — изучение влияния делеционных полиморфизмов *GSTT1* и *GSTM1* на эффективность ХТ у больных РМЖ.

**Материалы и методы.** Были проанализированы данные о 132 пациентках с диагнозом РМЖ, ПА—III стадии, в возрасте от 23 до 79 лет (средний возраст  $48 \pm 13$  лет), получивших ХТ. Детекцию нулевых генотипов *GSTM1* и *GSTT1* (0 — делеция, 1 — норма) осуществляли с помощью мультиплексной ПЦР с последующим анализом кривых плавления продуктов реакции. Для оценки эффективности терапии применяли показатели общей выживаемости (ОВ) и БРВ. Расчеты проводились методом Каплана—Майера.

**Результаты.** Среди 132 женщин рецидив заболевания наступил у 70 (53 %), без рецидива — 62 (47 %) человека. За время наблюдения зафиксировано 39 (29,5 %) летальных исходов. У пациентов с рецидивом нормальный генотип *GSTT1* идентифицирован у 63 (90 %) пациенток, делеция — у 7 (10 %), генотип *GSTM1-1* (норма) — у 41 (58,6 %), *GSTM1-0* (делеция) — у 29 (41,4 %) пациенток. ОВ у пациенток с нормальным генотипом *GSTT1* была ниже, чем у пациенток с делецией гена, —  $72,7 (\pm 4,6)$  против  $77,9 (\pm 9,8)$  %, однако показатели статистически незначимы (отношение рисков (ОР) 0,532; 95 % ДИ 0,189—1,498,  $p = 0,224$ ). В то же время у пациенток с нормальным генотипом *GSTT1* БРВ статистически значимо была ниже, чем у пациенток с делецией, —  $45,8 (\pm 5,1)$  против  $70,4 (\pm 10,2)$  % (ОР 0,418; 95 % ДИ 0,191—0,915,  $p = 0,024$ ). Схожие данные по-

лучены для полиморфизма гена *GSTM1*: ОВ пациенток с нормальным генотипом составила  $65,2 (\pm 6,3)$  %, у пациенток с делетированным вариантом гена —  $82,0 (\pm 5,2)$  %, показатели статистически незначимы (ОР 0,6; 95 % ДИ 0,314—1,147,  $p = 0,118$ ). БРВ пациенток с генотипом *GSTM1-1* была статистически значимо ниже, чем с генотипом *GSTM1-0*, —  $39,4 (\pm 6,6)$  против  $58,3 (\pm 6,5)$  % (ОР 0,596; 95 % ДИ 0,369—0,964,  $p = 0,033$ ).

**Закключение.** Преимущество от ХТ получают пациенты с делецией генов *GSTT1* и *GSTM1*. Носительство делетированных вариантов генов *GSTT1* и *GSTM1* может рассматриваться в качестве предиктора ответа на ХТ.

### Модуляторы p53-зависимых сигнальных путей как перспективные противораковые препараты

А.А. Дакс, О.А. Федорова, О.Ю. Шувалов, А.В. Петухов,  
С.Е. Парфеньев, Н.А. Барлев

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

**Введение.** Белок p53 является главным онкосупрессором человека, регулирующим такие процессы как апоптоз, остановка клеточного цикла, репарация ДНК, клеточный метаболизм и др. Известно, что функции p53 нарушены в более чем 50 % диагностируемых опухолей, что подтверждает его важнейшую роль в подавлении канцерогенеза. Таргетные препараты, направленные на стабилизацию и восстановление функций p53, разрабатываются уже более 20 лет. Одним из наиболее распространенных стабилизаторов p53 является нутлин-3а — низкомолекулярный ингибитор взаимодействия p53 с его главным негативным регулятором MDM2. По причине высокой токсичности лишь несколько производных нутлина, в том числе идазанутлин и RG7112, были допущены до клинических испытаний.

**Цель исследования** — с помощью молекулярного докинга идентифицировать изатиновые производные, потенциально способные стабилизировать белок p53.

**Результаты.** Мы подтвердили способность отобранных соединений повышать транскрипционную активность белка p53, а также индуцировать p53-зависимый апоптоз в клетках остеосаркомы и КРР человека. Данные соединения могут рассматриваться как потенциальные противораковые препараты для терапии опухолей различного типа.

Так как p53 является ключевым регулятором жизненно важных клеточных процессов, его активность тонко регулируется. Посттрансляционные модификации p53, осуществляемые специфичными ферментами, определяют активность, стабильность и внутриклеточную локализацию данного белка. Белок PIRH2, как и MDM2, является убиквитинлигазой для p53, а также для ряда других важных онкоассоциированных

белков. Мы показали, что PIRH2 проявляет онкогенные функции в клетках РЛ независимо от p53. На основании полученных нами и другими исследователями данных, PIRH2 является перспективной мишенью для разработки противоопухолевой терапии.

Еще одним важным регулятором p53 является метилтрансфераза SET7/9. Как и многие p53-специфичные ферменты, SET7/9 также осуществляет модификацию гистонов и принимает важное участие в формировании экспрессионного профиля клетки. Роль SET7/9 в формировании и прогрессии раковых заболеваний неоднозначна и зависит от тканевого, клеточного и молекулярного контекста. Согласно нашим данным, подавление SET7/9 способствует сенсibilизации клеток РЛ к генотоксической терапии, но при этом формированию резистентности к ней клеток различных субтипов РМЖ.

**Заключение.** Мы продемонстрировали, что низкомолекулярные ингибиторы SET7/9 — PFI-2 и ципрогептадин — способствуют сенсibilизации клеток РЛ к противоопухолевым препаратам, что позволяет значительно снизить эффективную концентрацию генотоксических агентов. Природное вещество берберин, являясь активатором SET7/9, может рассматриваться как перспективный препарат для подавления лекарственной устойчивости клеток РМЖ.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 24-45-04002).*

## Полнотранскриптомное секвенирование опухоли толстой кишки и метастаза в печени у пациента с полным ответом на предоперационное лечение

Т.А. Дронова<sup>1</sup>, Н.Н. Бабышкина<sup>1,2</sup>, Д.Н. Костромицкий<sup>1</sup>,  
Д.А. Еремин<sup>1,2</sup> Н.В. Чердынцева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск;  
<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск  
e-mail: tanuadronova@mail.ru

**Введение.** Современные схемы ХТ в комбинации с таргетной терапией могут оказывать выраженное повреждающее действие на метастатические узлы в печени, при этом доля пациентов с полной регрессией метастазов после проведения неoadъювантного лечения составляет лишь 0–6 %.

**Цель исследования** — изучить особенности транскриптома у пациента с частичной регрессией первичной опухоли и полной регрессией метастатического узла в печени.

**Материалы и методы.** Проведено полнотранскриптомное секвенирование образцов опухолевой и условно неизменной ткани первичного узла толстой кишки

и метастаза в печени до и после предоперационной терапии (FOLFOXIRI + цетуксимаб), полученных от пациента с метастатическим РТК (T4N1M1). Объективный ответ на лечение оценивался согласно критериям RECIST 1.1. Полнотранскриптомное секвенирование проведено с использованием прибора NextSeq500 (Illumina, США).

**Результаты.** Согласно результатам полнотранскриптомного секвенирования первичного узла толстой кишки обнаружено пять дифференциально экспрессированных генов. Из них ген *ZG16* гиперэкспрессирован до этапа лечения; гены *DES*, *ATP1A2*, *DTP*, *EPHA6* — после противоопухолевой терапии. Паттерн высокоэкспрессированных генов в метастатических узлах печени до проведения неoadъювантной терапии включал: *EPS8L3*, *SCNN1A*, *ATP10B*, *MYO7B*, *ANO9*, *MUC4*, *EPS8L2*, *CDH17*, *NXPE1*, *EVPL*, *EPPK1*, *SLC44A4*, *SPIRE2*, *PKP3*, *CDCA7*, *MYO1A*, *VIL1*, *BNIP5*, *MUC12*, *KLF5*. После этапа лечения отмечена высокая транскрипционная активность генов *HBB*, *RGS1*, *FOSB*, *CCN2*, *IL7R*, *CTSD*, *CXCR4*, *SLA*, *ATF3*, *TSC22D3*, *CCN1*, *SLC1A3*, *MS4A4A*, *PSAP*, *COL3A1*, *MMP19*, *MGP*, *FKBP5*, *DEPPI*, *ZFP36*. Гиперэкспрессия генов *ZG16* и *EPS8L2*, выявленная соответственно в ткани первичной опухоли и метастазе до противоопухолевого лечения, может свидетельствовать о благоприятном прогнозе заболевания.

**Заключение.** Изначально высокий уровень транскриптов *ZG16* и *EPS8L2* может способствовать формированию чувствительного к ХТ в комбинации с таргетной терапией фенотипа опухоли.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 22-15-00212).*

## Синергизм ингибиторов FGF/FGFR- и VEGF/VEGFR-сигнальных путей в отношении иматиниб-резистентных клеток гастроинтестинальных стромальных опухолей

П.Д. Дунаев, А.Р. Галембикова, С.В. Бойчук  
ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань  
e-mail: dunaevpavel@mail.ru

**Введение.** Установлены факты структурной и функциональной взаимосвязи рецепторов FGFR и VEGFR в опухолевых клетках, что создает предпосылки для комбинированного использования ингибиторов вышеуказанных путей в качестве таргетной терапии. В связи с вышеизложенным было предпринято исследование по изучению взаимосвязи FGF/FGFR- и VEGF/VEGFR-сигнальных путей в патогенезе ГИСО.

**Цель исследования** — изучить цитотоксическую активность ингибиторов FGF/FGFR- и VEGF/VEGFR-



сигнальных путей в отношении иматиниб-резистентных клеток ГИСО.

**Материалы и методы.** Клетки ГИСО культивировали в питательной среде RPMI-1640 с L-глутамином (ПанЭко, Россия) с добавлением 15 % ЭТС и антибиотиков. К опухолевым клеткам добавляли ингибитор FGF/FGFR-сигнального пути (BGJ 398), ингибиторы VEGF/VEGFR-сигнального пути (сунитиниб, регорафениб), а также их комбинации. Методом иммуноблоттинга оценивалась экспрессия общих и фосфорилированных форм VEGFR1-2, FGFR1-2, FRS-2, c-Kit, а также маркеров апоптоза (расщепленных форм ПАРП и каспазы 3). Оценку пролиферации клеток ГИСО проводили с помощью клеточного анализатора iCELLigence RTCA (ACEA Biosciences, США). Синергизм таргетных препаратов оценивали с помощью колориметрического MTS-теста (Promega, США). Взаимодействие рецепторов FGFR/VEGFR изучалось с помощью иммунофлуоресцентной микроскопии и коиммунопреципитации. Методом ИФА исследовали концентрацию FGF-2 и VEGF-A в супернатантах.

**Результаты.** В иматиниб-резистентных клетках ГИСО была обнаружена гиперэкспрессия фосфорилированных и общих форм FGFR1-2, FGF-2, VEGFR1-2, VEGF-A, а также снижение экспрессии фосфорилированной и общей форм c-Kit. В супернатантах отмечался повышенный уровень FGF-2 и VEGF-A. Кроме того, в иматиниб-резистентных ГИСО было выявлено структурное и функциональное взаимодействие между FGFR1-2 и VEGFR1. Препараты (BGJ 398, сунитиниб, регорафениб) по отдельности не оказывали цитотоксического эффекта в отношении иматиниб-резистентных клеток ГИСО, в то время как их комбинации (BGJ 398 + сунитиниб, BGJ 398 + регорафениб) приводили к массовой гибели опухолевых клеток по механизму апоптоза и резкому снижению их пролиферации.

**Заключение.** В процессе развития резистентности клеток ГИСО к таргетному препарату иматинибу происходит изменение киназного профиля опухолевых клеток: снижается активность Kit-сигнального пути (без возникновения вторичных мутаций гена *KIT*), повышается активность FGF/FGFR- и VEGF/VEGFR-сигнальных путей (между рецепторами возникает структурное и функциональное взаимодействие). Это позволяет рассматривать комбинацию ингибиторов FGF/FGFR- и VEGF/VEGFR-сигнальных путей в качестве эффективной второй линии терапии для пациентов с ГИСО, имеющих вторичную резистентность к иматинибу, обусловленную гиперактивацией указанных сигнальных путей.

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

## Маркер CD38 при генерации натуральных киллеров *in vitro* у онкологических пациентов и здоровых доноров

Р.В. Журиков<sup>1</sup>, Н.В. Грищенко<sup>1</sup>, К.Д. Балышева<sup>1</sup>,  
М.В. Бекетова<sup>1</sup>, Е.В. Абакушина<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ООО «Текон Медицинские Приборы», Москва;

<sup>2</sup>ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии»

Минздрава России, Москва

e-mail: zhurikov@tecon.ru

**Введение.** Молекула CD38 — фермент, регулирующий концентрацию цитоплазматического кальция. Клетки с высоким уровнем экспрессии CD38 проявляют низкую пролиферативную активность, но активно продуцируют IL-2 и ИФН-γ. Высокий уровень CD38 экспрессируется на НК-клетках после активации и способствует антителозависимой клеточной цитотоксичности для лизиса опухолевых клеток.

**Цель исследования** — сравнительная оценка экспрессии маркера CD38 на НК-клетках при генерации *in vitro* у здоровых доноров и онкологических больных.

**Материалы и методы.** Мононуклеарные клетки выделяли из периферической крови 10 пациентов с солидными опухолями и у 10 здоровых доноров на градиенте плотности Фиколла и культивировали в среде RPMI-1640 (ООО «ПанЭко») с добавлением IL-2, -15, -21 с фидерными клетками К-562 в течение 14 дней. Цитометрический анализ проводили на 0, 7 и 14-й дни культивирования на цитометре ImageStream MkII (Luminex). Применяли 8-цветную панель антител к CD3/45/56/16/HLA-DR/CD38/7AAD. Статистическую обработку данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента. Данные приведены в процентах от живых НК-клеток (CD56+CD16+7AAD-) в виде среднего арифметического.

**Результаты.** Уровень маркера CD38 на НК-клетках на 0-й день в группе пациентов составил 46 %, что превышало в 2,8 раза уровень экспрессии у здоровых доноров, который составил 16,5 %, хотя статистически достоверную разницу обнаружить не удалось. На 7-й день культивирования уровень CD38 вырос и составил в группе здоровых доноров 63,6 %, а в группе пациентов достигал максимума в 98,4 % ( $p < 0,01$ ). На 14-й день уровень CD38 в обеих группах снижался: более выражено у здоровых доноров — до 38,2 %, а в группе пациентов незначительно — до 90,7 % ( $p < 0,01$ ).

**Заключение.** При использовании данного метода культивации НК-клетки от пациентов с солидными опухолями, приобретают повышенный уровень экспрессии маркера CD38 по сравнению с клетками здоровых доноров. Данное явление говорит об ограниче-

нии пролиферативного потенциала НК-клеток онкологических больных, но увеличении их цитокинопродуцирующей функции.

*Публикация подготовлена на основании результатов, полученных в ходе реализации Соглашения о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научных центров мирового уровня, выполняющих исследования и разработки по приоритетам научно-технологического развития от 20 апреля 2022 г. № 075-15-2022-310.*

### Изучение связи полиморфных маркеров генов *ERCC2*, *ABCB1* и *CDKN1A* с ответом на лечение онкологических заболеваний на фоне беременности

Т.М. Заварыкина<sup>1,2</sup>, М.А. Капралова<sup>1</sup>, Е.В. Козырко<sup>2</sup>,  
Е.А. Лужина<sup>2</sup>, Д.А. Байгазиева<sup>2</sup>, С.В. Хохлова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт биохимической физики  
им. Н.М. Эмануэля РАН», Москва;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии  
им. В.И. Кулакова Минздрава России», Москва  
e-mail: tpalievskaya@yandex.ru

**Введение.** Лечение онкологических заболеваний во время беременности — актуальная проблема, поскольку с каждым годом частота выявления таких случаев возрастает. Большинство больных получают цитостатические препараты. Ответ на ХТ при этом может быть обусловлен активностью систем репарации ДНК, один из белков которых кодируется геном *ERCC2*. Ген *ABCB1* кодирует клеточный трансмембранный транспортер Р-гликопротеин, который отвечает за перенос соединений через мембрану клетки, в том числе лекарственных препаратов.

**Цель исследования** — изучение связи полиморфных маркеров генов репарации ДНК *ERCC2* (rs13181), транспортного белка *ABCB1* (rs2032582), клеточного цикла *CDKN1A* (rs1801270) с клиническим ответом, степенью патоморфологической регрессии опухоли у беременных женщин с онкологическими заболеваниями, получавших цитостатическую ХТ.

**Материалы и методы.** В исследование были включены беременные с онкологическим заболеванием ( $n = 51$ ). У пациенток при установлении диагноза был отобран образец периферической крови, из которого выделяли ДНК и проводили генотипирование методом ПЦР в реальном времени с флуоресцентными аллель-специфичными зондами на приборе LC96 (Roche). Результаты определения маркера сопоставляли с клиническим ответом, степенью патоморфологической регрессии опухоли с использованием метода логистической регрессии.

**Результаты.** Выявлена связь полиморфного маркера rs13181 гена *ERCC2* с наличием полного клинического ответа опухоли при носительстве аллеля Т ( $p = 0,03$ ) и тенденция к значимости для маркера rs2032582 гена *ABCB1* ( $p = 0,08$ ). Данные о степени патоморфоза были доступны для 39 больных. Была выявлена связь маркера rs2032582 гена *ABCB1* с достижением полной патоморфологической регрессии при носительстве аллеля С ( $p = 0,004$ ) и тенденция к значимости с достижением полной патоморфологической регрессии и патоморфологической регрессии 3 степени для маркера rs1801270 гена *CDKN1A* при носительстве аллеля А ( $p = 0,06$ ).

**Закключение.** В работе выявлена связь полиморфных маркеров генов *ERCC2* и *ABCB1* с клиническим ответом и степенью патоморфологической регрессии опухоли соответственно.

### Хлорохин ингибирует выход клеток А549 и НСТ116 из стадии индуцированного карбоплатином клеточного старения

М.А. Замкова<sup>1,2</sup>, Н.А. Персиянцева<sup>2</sup>, Д.Б. Казанский<sup>2</sup>,  
В.В. Татарский<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт биологии гена РАН», Москва;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва  
e-mail: zamkovam@gmail.com

**Введение.** Одно из неблагоприятных последствий применения низких доз ХТ — это возврат клеток к повторной пролиферации (рецидив опухоли). Актуальным направлением исследований является поиск адьювантов, повышающих эффективность действия химиопрепаратов в долгосрочной перспективе. Хлорохин, изначально применяемый для лечения малярии, в настоящее время исследуется в качестве такого адьюванта. Показана его эффективность в качестве противоопухолевого препарата в некоторых типах рака.

**Цель исследования** — оценить влияние совместного применения карбоплатина и хлорохина на способность клеток А549 и НСТ116 к выходу из стадии индуцированного старения.

**Материалы и методы.** Использовались следующие методы работы: окраска клеток на определение изменения активности β-галактозидазы, анализ распределения клеток по фазам клеточного цикла, анализ колониобразующей способности клеток с помощью окрашивания кристаллическим фиолетовым.

**Результаты.** Совместное применение хлорохина и низких доз карбоплатина приводит к ингибированию выхода клеток А549 и НСТ116 из стадии индуцированного препаратом старения. Хлорохин замедляет становление стадии старения, что было показано путем оценки изменения активности β-галактозидазы (SA-β-gal). Анализ распределения клеток по фазам клеточного

цикла также показал замедление развития ответа на действие карбоплатина — меньшее число клеток в стадии G2/М и большее в фазе G1 в экспериментальной группе, обработанной препаратом и хлорохином, по сравнению с группой, на которую воздействовали только препаратом (через 24 ч после воздействия). Через 5–7 дней после инкубации с химиопрепаратом отдельные клетки A549 и HCT116 начинают «выходить» из блока клеточного цикла (G2/М), чему соответствует увеличение доли клеток в фазе G1. Однако клетки, подвергшиеся совместному действию карбоплатина и хлорохина, продолжают находиться в G2/М-фазе цикла в случае линии A549 или «уходят» в апоптоз (subG1) в случае HCT116. В экспериментальных группах, обработанных только препаратом, наблюдается значительно большее число сформированных колоний по сравнению с группами, где добавляли хлорохин (через 10–14 дней после начала эксперимента). Данный результат получен на обеих исследуемых линиях клеток.

**Заключение.** Использование хлорохина совместно с карбоплатином приводит к снижению доли клеток, преодолевших стадию индуцированного старения и вернувшихся к повторной пролиферации. Результат получен на двух линиях клеток — A549 и HCT116.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 24-24-00293).*

## Онколиз клеток глиобластомы человека полиовирусом: редокс-статус и метаболические мишени для фармакотерапии

М.А. Зенов, А.В. Иванов

ФГБУН «Институт молекулярной биологии  
им. В.А. Энгельгардта РАН», Москва  
e-mail: martin.zenov@yandex.ru

**Введение.** Полиовирус, РНК-содержащий вирус из рода Enterovirus семейства Picornaviridae, может действовать как онколитический агент против мультиформной глиобластомы человека. Одним из направлений в создании эффективной виротерапии является поиск агентов, которые могут усиливать действие вирусов. Такими агентами могут выступать ингибиторы метаболических процессов, которые активно используются в онкологии и терапии аутоиммунных заболеваний. Одной из стратегий поиска подобных соединений является идентификация ключевых изменений метаболизма заражаемых опухолевых клеток. Однако влияние энтеровирусов на метаболизм клеток изучено недостаточно.

**Цель исследования** — изучить влияние полиовируса на метаболические пути клеточных линий глиобластомы человека для поиска потенциальных мишеней для фармакотерапии.

**Материалы и методы.** Линии клеток U-251MG и DBTRG-05MG инфицировали штаммом полиовируса PV2 (Sabin), его репликацию оценивали иммунохимическим окрашиванием и титрованием по методу Рида и Менча с определением тканевой инфекционной дозы (TCID<sub>50</sub>). Функциональные параметры гликолиза и дыхательной активности митохондрий измеряли с помощью технологии Seahorse. Уровни клеточных метаболитов определялись газовой хроматографией с масс-спектрометрической детекцией, а также высокоэффективной жидкостной хроматографией; уровни мРНК некоторых ферментов оценивали ОТ-ПЦР-РВ.

**Результаты.** Мы обнаружили, что полиовирус усиливает биосинтез триглицеридов, жирных кислот и пуриновых нуклеотидов в клетках GBM. Показано, что пируват и, в частности, его транспорт в митохондрии являются необходимыми для репликации полиовируса. Уровни некоторых биогенных полиаминов, являющихся ключевыми участниками патогенеза множества вирусов, напротив, лишь незначительно менялись при инфекции. Отмечено снижение гликолитической и запасной дыхательной емкости в инфицированных клетках, связанное со снижением скорости внеклеточного закисления и активности системы окислительного фосфорилирования.

**Заключение.** В результате исследования был установлен ряд метаболических путей, играющих важную роль в патогенезе полиовируса. Полученные данные в совокупности с дальнейшим исследованием метаболических аспектов инфицированных клеток закладывают основу для разработки подходов комбинированной терапии злокачественных опухолей, в частности, глиобластомы.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 19-74-10086).*

## Оценка роли гаплотипов ε2 и ε4 APOE в прогнозе десятилетней безрецидивной выживаемости пациенток с диагнозом рака тела матки

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

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

**Введение.** В структуре заболеваемости ЗНО женского населения России в 2023 г. рак тела матки (РТМ) занимает 3-е место (8 %) после РМЖ и кожи (кроме меланомы). За 10 лет прирост стандартизованного показателя заболеваемости РТМ составил 9,12 %. Благодаря ранней диагностике и оптимизации методов лечения, стандартизованный показатель смертности снижается; за 10 лет убыль составила 13,2 %. В структуре смертности от ЗНО репродуктивных органов РТМ

занимает 3 место, и стандартизованный показатель составляет 5,5 %. Выяснение причин разного ответа на лечение является актуальной задачей. Белки с антиоксидантными свойствами играют важную роль в развитии ЗНО. Ранее нами было показано, что гаплотип  $\epsilon 4$  (rs429358) *APOE* ассоциирован с плохим первичным ответом на лечение при РЯ (RU 2769543 C2. 01.04.2022), а гаплотип  $\epsilon 2$  (rs7412) с предрасположенностью к РТМ с сопутствующей гиперплазией эндометрия.

**Цель исследования** — оценить роль гаплотипов  $\epsilon 2$  и  $\epsilon 4$  *APOE* в прогнозе 10-летней БРВ пациенток с диагнозом РТМ.

**Материалы и методы.** В исследование включены 157 пациенток (медиана возраста 57 лет), получавших лечение в МРНЦ им. А.Ф. Цыба по поводу эндометриальной аденокарциномы матки. У подавляющего большинства (больше 90 %) пациенток диагностирована стадия T1, в 7 % случаев — низкодифференцированная опухоль. Генотипирование *APOE* проводили с помощью ПЦР с последующей обработкой ампликонов рестриктазой CfoI (Promega, Madison, США). Статистический анализ проводили с помощью пакета программ MedCalc 23.0.1. Оценка 10-летней БРВ проводилась методом Каплана—Майера с использованием логрангового теста (Mantel—Cox).

**Результаты.** Выявлено 14 случаев рецидивов: 5 человек с генотипом *APOE*  $\epsilon 2/\epsilon 3$ , 2 пациентки с генотипом *APOE*  $\epsilon 3/\epsilon 4$  и 7 — с *APOE*  $\epsilon 3/\epsilon 3$ . Средняя 10-летняя БРВ пациенток с диагнозом РТМ T1 стадии выше 90 %. Для носительниц  $\epsilon 2$  *APOE* по сравнению с пациентками, у которых этот аллель отсутствует, логранговый тест (Mantel—Cox) на уровне тенденции ( $p = 0,0721$ ) выявил пониженную 10-летнюю БРВ (93,3 % против 97,6 %). Для аллеля  $\epsilon 4$  различия еще меньше (96,8 и 96,5 % соответственно,  $p = 0,685$ ).

**Закключение.** Для гаплотипов  $\epsilon 2$  и  $\epsilon 4$  *APOE* не выявлена значимая связь с 10-летней БРВ пациенток с диагнозом РТМ.

## Цепецентрические Т-клеточные рецепторы в репертуаре первичных эффекторов и клеток памяти

Д.Б. Казанский<sup>1</sup>, А.А. Калинина<sup>1</sup>, М.В. Кубекина<sup>2</sup>,  
Н.А. Персиянцев<sup>1</sup>, А.В. Брутер<sup>1,2</sup>, Л.М. Хромых<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Лаборатория механизмов регуляции иммунитета  
НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии  
им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>Центр высокоточного редактирования и генетических  
технологий для биомедицины  
ФГБУН «Институт биологии гена РАН», Москва  
e-mail: kazansky1@yandex.ru

**Введение.** Цепецентричность Т-клеточного рецептора (ТКР) — феномен доминирования одной цепи ( $\alpha$  или  $\beta$ ) гетеродимера в распознавании антигена. Это

свойство некоторых ТКР может значительно облегчить и повысить эффективность получения терапевтических Т-клеточных продуктов для иммунотерапии онкологических и инфекционных заболеваний. Наши исследования показали, что значительная часть репертуара естественно сформированных Т-клеток памяти содержит цепецентрические ТКР. Однако остается неизвестным, является ли цепецентричность следствием селекции клонов в ходе формирования иммунологической памяти или свойством, изначально присущим репертуару ТКР.

**Цель исследования** — проанализировать частоту встречаемости ТКР с доминантно-активной  $\alpha$ -цепью в репертуаре первичных эффекторов и реактивированных клеток памяти мыши.

**Материалы и методы.** Мышей C57BL/6 (H-2<sup>b</sup>) иммунизировали клетками мастоцитомы P815 (H-2<sup>d</sup>). Методом NGS-секвенирования анализировали библиотеки  $\alpha$ -цепей ТКР из репертуаров первичных эффекторов и клеток памяти мыши, стимулированных *in vitro* антигенами P815. Реагирующими с антигеном считали варианты ТКР $\alpha$ , частота которых минимум в 3 раза превышала частоту этого же клонотипа в репертуаре интактных и иммунизированных мышей без антигенной стимуляции *in vitro*. Методом ретровирусной трансдукции получали Т-лимфоциты, модифицированные индивидуальной ТКР $\alpha$ , происходящей из репертуара первичных эффекторов или реактивированных клеток памяти. Доминантно-активные ТКР $\alpha$  определяли по способности трансдуцированных Т-клеток пролиферировать *in vitro* в ответ на специфическую стимуляцию антигенами P815.

**Результаты.** В системе *in vitro* были протестированы 15 ТКР $\alpha$  из репертуара первично активированных эффекторов и 13 ТКР $\alpha$  из репертуара реактивированных клеток памяти. Выявлены 4 (27 %) доминантно-активных  $\alpha$ -цепи первичных эффекторов и 5 (38 %)  $\alpha$ -цепей клеток памяти.

**Закключение.** Исследование показало, что ТКР с доминантно-активными  $\alpha$ -цепями обнаруживаются в репертуаре как первично активированных эффекторов, так и клеток памяти, но доля таких рецепторов в пуле реактивированных клеток памяти выше. Таким образом, цепецентричность является свойством, изначально присущим репертуару ТКР. Вместе с тем, вполне вероятно, что в ходе формирования иммунологической памяти происходит обогащение репертуара отвечающих Т-клеток клонотипами, экспрессирующими цепецентрические ТКР.

Работа выполнена при финансовой поддержке  
гранта РФФИ № 22-15-00342 (2022–2024).



## Циклофилин А модулирует экспрессию маркеров активации и истощения Т-лимфоцитов и NK-клеток в опухолевом микроокружении

А.А. Калинина, Л.М. Хромых, Д.Б. Казанский

Лаборатория механизмов регуляции иммунитета  
НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии  
им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва  
e-mail: aakalinina89@gmail.com

**Введение.** NK- и Т-клетки — важнейшие эффекторы врожденного и адаптивного противоопухолевого иммунитета. Зачастую Т- и NK-клетки в опухоли имеют фенотип функционального истощения, который характеризуется экспрессией ингибиторных молекул (PD-1, CTLA-4, LAG-3 и др.), вследствие чего они не могут реализовывать свои эффекторные функции. Репрограммирование функциональной активности Т- и NK-клеток является важной стратегией терапии опухолей, в том числе иммунологически холодного типа. Ранее мы показали, что рекомбинантный циклофилин А человека обладает противоопухолевым действием, модулирует иммунное микроокружение опухоли и усиливает функции цитотоксических Т-клеток. Он потенциально может быть фактором регуляции активности эффекторов противоопухолевого иммунитета.

**Цель исследования** — изучить влияние рекомбинантного циклофилина А человека на экспрессию маркеров активации и истощения Т- и NK-клеток в опухолевом микроокружении в модели меланомы B16.

**Материалы и методы.** Меланому B16 прививали подкожно мышам C57BL/6. Рекомбинантный циклофилин А человека (100 мкг/мышь) вводили подкожно на 3–7-й дни после прививки B16. На 17-й день после прививки выделяли опухоль-инфильтрирующие лимфоциты из гомогената первичной опухоли на градиенте фикола с последующим анализом экспрессии маркеров активации (CD44, CD25, CD28) и истощения (PD-1, CTLA-4, LAG-3, TIM3) Т- и NK-клеток методом проточной цитометрии.

**Результаты.** Рекомбинантный циклофилин А человека снизил долю LAG-3<sup>+</sup>- и TIM3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-Т-клеток в опухоли в 4 и 2 раза соответственно по сравнению с контролем. В популяции CD8<sup>+</sup>-Т-клеток под его действием наблюдали увеличение доли PD-1<sup>+</sup>-клеток в 3 раза и снижение относительного количества LAG-3<sup>+</sup>-клеток в 2 раза по сравнению с контролем. После введения рекомбинантного циклофилина А человека в микроокружении меланомы B16 отмечали значительное увеличение доли центральных CD8<sup>+</sup>-клеток памяти (CD44<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>), которые более эффективно контролируют опухолевый рост, чем терминально дифференцированные CD8<sup>+</sup>-эффекторы (CD44<sup>+</sup>CD62L<sup>-</sup>). Рекомбинантный циклофилин А человека также увеличил содержание в опухоли CD25<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>-Т-клеток в 3 раза и повысил уровень экспрессии маркера CD28

в CD8<sup>+</sup>-клетках в 2 раза по сравнению с контролем. При анализе NK-клеток было показано, что рекомбинантный циклофилин А человека увеличил долю PD-1<sup>+</sup>-клеток и уровень экспрессии CTLA-4 в 2 раза, а также снизил долю LAG-3<sup>+</sup>-клеток в 5 раз по сравнению с контролем.

**Заключение.** Рекомбинантный циклофилин А человека может быть фактором репрограммирования функциональной активности Т- и NK-клеток в опухолевом микроокружении за счет модуляции экспрессии маркеров активации и истощения в данных эффекторах.

## In vivo эффективность противоопухолевой терапии A673 ксенографтов OX71 ингибитором в присутствии онколитического аденовируса зависит от индукции ферроптоза и экспрессии KISS1R в клетках мишенях

К.Р. Канцерова<sup>1</sup>, Д.Р. Файзуллина<sup>1</sup>, Е.А. Гостеева<sup>1</sup>,  
Д.А. Анискин<sup>1</sup>, С.В. Цибульников<sup>1</sup>, Н.П. Логинова<sup>1</sup>,  
А.А. Недорубов<sup>2</sup>, О.М. Романцова<sup>3</sup>, П.С. Тимашев<sup>4</sup>,  
И.В. Уласов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Группа экспериментальной биотерапии,  
Институт регенеративной медицины  
ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава  
России (Сеченовский Университет), Москва;

<sup>2</sup>отдел доклинических исследований,  
Институт трансляционной медицины  
ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава  
России (Сеченовский Университет), Москва;

<sup>3</sup>НИИ детской онкологии и гематологии  
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва;

<sup>4</sup>Центр мирового уровня «Цифровой биодизайн  
и персонализированное здравоохранение»  
ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова  
Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва  
e-mail: kam11\_03@mail.ru

**Введение.** Саркома Юинга — ЗНО детского и подросткового возраста, которое может возникать как в костях, так и в мягких тканях. Карбоангидразы играют важную роль в метаболизме саркомы Юинга: они контролируют уровень pH вне клеток и внутри них. Раковые клетки способны использовать для повышения уровня агрессии опухоли как высокий, так и низкий уровень pH. Ингибирование карбоангидраз в комбинации с добавлением вируса может иметь высокий антиметастатический потенциал, что весьма актуально в случае развития саркомы Юинга.

**Цель исследования** — оценить влияние ингибиторов карбоангидраз на формирование опухолей и легочных метастазов саркомы Юинга *in vivo*.

**Материалы и методы.** В работе были использованы ингибиторы карбоангидраз — OX71 и Ру-23, а также

AdKISS1-онколитический самореплицирующийся аденовирус, экспрессирующий антиметастатический KISS1R. Также использовались подкожная перевиваемая модель и метастатическая модель A673 саркомы Юинга. Были проведены тесты на острую токсичность у мышей методом ИГХ, а также исследована экспрессия белков в тканях.

**Результаты.** Ранее в работе мы продемонстрировали, что терапия ингибиторами карбоангидраз в дозозависимой манере ограничивает рост опухолевых клеток и активирует экспрессию проапоптотических белков Вах и Рума. Использование модулятора ферроптоза RLS3 повышало чувствительность опухолевых клеток к терапии и снижало экспрессию FTH1. В настоящей работе мы показали, что и онколитический вирус, и ингибитор обладают способностью замедлять рост подкожного ксенографта ( $p < 0,05$ ), однако комбинация с онколитическим вирусом не дала ощутимого терапевтического эффекта (Ki-67 экспрессия в срезах тканей и объем опухоли). При внутривенном введении A673 и последующей терапии легочных метастазов комбинацией OX71 и AdKISS1 (внутривенно) наблюдался аддитивный эффект, который выражался в увеличении продолжительности жизни мышей и формировании меньшего количества/отсутствия A673 метастазов в легких. Данные количественной ПЦР-РВ предполагают активацию экспрессии KISS1R в группе мышей, получивших комбинированное лечение.

**Закключение.** Полученные результаты на A673 моделях позволяют считать ингибиторы карбоангидраз безопасными и эффективными противоопухолевыми агентами в отношении клеток саркомы Юинга *in vitro* и *in vivo*.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 21-15-00213).*

## Поиск мишеней для сенситизации клеток эпителиальных опухолей к действию ингибиторов CDK4/6

А.С. Каргапольцева, М.А. Ястребова, А.И. Хамидуллина,  
Н.Г. Павленко, В.В. Татарский

ФГБНУ «НИИ биологии гена РАН», Москва  
e-mail: kargapolitseva.nastya@mail.ru

**Введение.** Перспективными мишенями противоопухолевой терапии являются циклинзависимые киназы CDK4/6. Однако часто при терапии ингибиторами CDK4/6 (CDK4/6i), наиболее изученным из которых является палбоциклиб, развивается устойчивость, что связано с активацией ряда адаптивных механизмов, способствующих выживанию опухолевых клеток. Потенциальными синергетическими партнерами CDK4/6i для повышения эффективности таргетной противоопухолевой терапии могут рассматривать-

ся эпигенетические ингибиторы, ингибиторы сигнальных путей выживания и перепрограммирования транскрипции.

**Цель исследования** — скрининг соединений, которые совместно с палбоциклибом будут эффективно подавлять пролиферацию злокачественных клеток, снижая риск развития резистентности.

**Материалы и методы.** На клетках MCF-7 (PMЖ) и SW-620 (карцинома толстой кишки) с помощью SRB-теста оценивалась цитотоксичность комбинаций палбоциклиба и ингибиторов перепрограммирования транскрипции Senexin B и SNX631 (CDK8/19i), AZD4573 (CDK9i), пинометостата, таземетостата (эпигенетических ингибиторов), ингибиторов киназы JAK руксолинита и NF-κB BAY11-7082. Анализ распределения клеток по циклу проводился с помощью проточной цитометрии. Определение маркеров клеточной гибели проводилось методом вестерн-блота и иммуноцитохимического анализа. Репликативное мечение осуществлялось с помощью BrdU.

**Результаты.** Из всех тестируемых веществ лишь комбинации палбоциклиба с ингибиторами перепрограммирования транскрипции CDK8/19i обладают более высокой цитотоксичностью по сравнению с монодействием палбоциклиба. При действии CDK8/19i клетки гибнут путем апоптоза, что подтверждается увеличением апоптотических маркеров. При применении комбинации препаратов происходит выход опухолевых клеток из G1 блока клеточного цикла и их гибель, сопровождаемая активацией маркеров репликационно-го стресса.

**Закключение.** Показан феномен сенситизации клеток MCF-7 и SW-620 к действию палбоциклиба с помощью CDK8/19i, что, вероятно, может быть связано с активацией репликационного стресса, результатом которого являются гибель клеток и предотвращение устойчивости к палбоциклибу.

## Удвоение молекулы бисбензимидазолпиррола повышает биологическую активность *in vitro* и приводит к повышению токсичности и противоопухолевой активности *in vivo*

С.П. Каршиева<sup>1</sup>, А.Ф. Арутюнян<sup>2</sup>, Е.А. Зайцева<sup>1</sup>,  
К.В. Калабина<sup>1</sup>, Г.З. Чкадуа<sup>1</sup>, Н.М. Смирнов<sup>2</sup>,  
А.А. Костюков<sup>3</sup>, А.Л. Жузе<sup>2</sup>, Д.Н. Калюжный<sup>2</sup>, О.Ю. Сусова<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт молекулярной биологии  
им. В.А. Энгельгардта РАН», Москва;

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт биохимической физики  
им. Н.М. Эмануэля РАН», Москва  
e-mail: susovaolga@yandex.ru

**Введение.** Быстрый рост устойчивости опухолей к применяемым лекарствам делает необходимым поиск новых эффективных соединений, что является важным направлением развития медицинской химии.

Мишенью действия ДНК-специфичных соединений на основе узкобороздочных лигандов являются АТ-пары нуклеотидов в структуре ДНК. С целью повышения сродства соединения с ДНК при помощи компьютерного моделирования были созданы структуры новых соединений, рассчитаны значения энергий образования димолекулярных узкобороздочных комплексов димерных бисбензимидазолпирролов с двунитевой последовательностью ДНК, состоящей из АТ-повторов. На основе этих данных была синтезирована новая серия бисбензимидазолпирролов, состоящая из одного мономерного  $MB_2Py(AC)$  и 7 димерных соединений  $DB_2Py(n)$ .

**Цель исследования** — подтверждение гипотезы о повышении биологической активности димерного соединения  $DB_2Py(3)$  в сравнении с мономерным  $MB_2Py(AC)$ .

**Материалы и методы.** Методом оценки цитотоксичности новых соединений на опухолевых клетках и методом ингибирования топоизомеразы I было выбрано лидерное соединение из числа димерных бисбензимидазолпирролов —  $DB_2Py(3)$ . Методом футпринтинга определена сиквенс-специфичность —  $DB_2Py(3)$ , способность связываться с АТ-парами ДНК. Новые соединения ингибировали ДНК-зависимые ферменты, связывались с альбумином, обладали аффинностью в отношении РНК.

**Результаты.** Работа *in vivo* проведена на здоровых мышцах самцах и самках гибридах (CBA $\times$ C<sub>57</sub>Bl/6<sub>J</sub>) F1, полученных из разведения ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Острая токсичность димерного соединения превышала мономерное в 5 раз при однократном внутривенном применении в диапазоне доз на самках и самцах мышей.

Оценка противоопухолевой активности проводилась на модели мышинного лимфолейкоза P388. Противоопухолевый эффект новых соединений проявился в увеличении продолжительности жизни мышей

с димерным  $DB_2Py(3)$  в 3 раза выше, чем с мономерным  $MB_2Py(AC)$ , но уступал иринотекану. Однако влияние на Т-лимфоциты человека было не токсично как для мономерного, так и для димерного бисбензимидазолпиррола.

**Заключение.** Новые димерные бисбензимидазолпирролы будут полезны для дальнейшего дизайна противоопухолевых молекул.

## Картирование положения дисульфидных связей в большом внеклеточном домене натрийзависимого фосфатного транспортера NaPi2b в опухолевых клетках

А.В. Килунов<sup>1</sup>, В.С. Скрипова<sup>1</sup>, Д.Д. Решетникова<sup>2</sup>,  
М.А. Попутский<sup>1</sup>, Р.Г. Киямова<sup>1</sup>, М.В. Богданов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательская лаборатория «Биомаркер»,  
Институт фундаментальной медицины и биологии  
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный  
университет», Казань;

<sup>2</sup>отдел биохимии и молекулярной биологии, Медицинская  
школа Макговерна, Университет Техасского центра  
медицинских наук, Хьюстон, США  
e-mail: kilunov73@gmail.com

**Введение.** Натрийзависимый фосфатный транспортер NaPi2b является маркером РЯ и перспективной мишенью для противоопухолевой терапии на основе антител. В состав большого ВКД транспортера NaPi2b входит эпитоп MX35, который распознается антителами в клетках опухоли, но не в клетках нормальных тканей, также содержащих NaPi2b. Доступность эпитопа MX35 в клетках опухоли зависит от дисульфидных связей между остатками цистеина C303, C322, C328 и C350 в области ВКД. Мы предполагаем, что за счет особенностей образования дисульфидных связей в условиях опухолевого микроокружения формируется уникальная конформация ВКД, при которой эпитоп MX35 доступен для антител именно в клетках опухоли. Однако сколько и между какими остатками цистеина они образуются, неизвестно.

**Цель исследования** — определение количества и положения дисульфидных связей в области ВКД NaPi2b в опухолевых клетках.

**Материалы и методы.** Клетки РЯ OVCAR8 со стабильной экспрессией дикого типа и мутантных вариантов транспортера NaPi2b с заменами одновременно двух остатков цистеина C303A + C328A и C322A + C328A обрабатывали реагентом mPEG-Mal-5000 (5 кДа), ковалентно модифицирующим свободные тиоловые группы остатков цистеина, в условиях с и без восстановления дисульфидных связей реагентом ТСЕР. Модификацию остатков цистеина оценивали по изменению электрофоретической подвижности NaPi2b в клеточ-

ных лизатах методом вестерн-блот анализа антителами против его N-концевого домена.

**Результаты.** Было показано, что только при восстановлении дисульфидных связей происходят модификация тиоловых групп mPEG-Mal-5000 и увеличение молекулярной массы NaPi2b дикого типа примерно на 20 кДа, что указывает на образование 2 дисульфидных связей в области ВКД. В случае мутантных вариантов NaPi2b модификацию остатков цистеина наблюдали также только после восстановления дисульфидных связей во всех исследованных вариантах, что свидетельствует о возможности образования дисульфидных связей С303-С350 (для С322А + С328А) и С322-С350 (для С303А + С328А).

**Закключение.** Таким образом, показано, что остаток цистеина С350 может участвовать в образовании дисульфидной связи как с С303, так и с С322, способствуя структурной пластичности ВКД транспортера NaPi2b, от которой зависит доступность эпитопа МХ35 для антител.

*Работа выполнена при поддержке  
Программы стратегического академического  
лидерства Казанского (Приволжского) федерального  
университета (ПРИОРИТЕТ-2030).*

## Анализ экспрессии генов микроРНК и генов, вовлеченных в процесс ускользания опухоли от действия иммунного надзора, при раке желудка

Ф.М. Кипкеева<sup>1</sup>, Т.А. Музаффарова<sup>1</sup>, Д.Ж. Мансорунов<sup>1</sup>,  
М.П. Никулин<sup>2</sup>, А.А. Алимов<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России, Москва  
e-mail: Foty\_k@mail.ru

**Введение.** Исследование посттранскрипционных механизмов регуляции экспрессии генов имеет важное значение для поиска прогностических маркеров и разработки таргетных препаратов при РЖ.

**Цель исследования** — изучение корреляционных связей между уровнями экспрессии микроРНК и генов, вовлеченных в процесс ускользания опухоли от действия иммунного надзора, а также определение сайтов связывания микроРНК в мРНК изучаемых генов.

**Материалы и методы.** Парные образцы опухолевой и нормальной тканей желудка были получены от пациентов, наблюдавшихся в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина (43 пациента в возрасте 29–80 лет). Все образцы охарактеризованы гистологически как аденокарцинома.

Уровни экспрессии генов *ADAM17*, *PVR*, *TDO2*, *CD274*, *CD276*, *CEACAM1*, *IDO1*, *LGALS3*, *LGALS9*,

*HHLA2* и микроРНК *miR-146a*, *miR-222*, *miR-148a*, *miR-23a*, *miR-25*, *miR-125b*, *miR-200b*, *miR-200c*, *miR-378i* определяли методом ПЦР-РВ. Ген контроля для белок-кодирующих генов — *GAPDH*, для микроРНК — *RNU48*. Относительный уровень экспрессии генов оценивали методом  $\Delta\Delta Ct$ . Коэффициент корреляции рассчитывали методом Спирмена ( $p < 0,05$ ). Ассоциации экспрессии исследуемых генов с клинико-морфологическими характеристиками изучали с применением ROC-анализа. Поиск сайтов связывания микроРНК в генах-мишенях осуществляли с использованием платформ *miRWalk* и *Diana-TarBase*.

**Результаты.** Обнаружена связь между экспрессией генов *HHLA2*, *LGALS3* и диффузным типом опухоли ( $p = 0,04$  для обоих генов). Других значимых ассоциаций между экспрессией генов и клинико-морфологическими характеристиками опухоли (глубиной инвазии, наличием метастазов, дифференцировкой) обнаружено не было. Выявлена обратная корреляционная связь между экспрессией гена *CD276* и экспрессией *miR-23a*, *miR-146a* ( $R = -0,6$ ); генов *CD274*, *HHLA2* и *LGALS3* и экспрессией *miR-148a* ( $R = -0,6$ ;  $-0,7$  и  $-0,6$  соответственно), а также между экспрессией гена *PVR* и *miR-141a*, *miR-335* ( $R = -0,6$  и  $-0,7$  соответственно); гена *ADAM17* и *miR-25* ( $R = -0,7$ ). Биоинформационный анализ подтвердил наличие сайтов связывания для микроРНК в последовательностях мРНК перечисленных генов, что позволяет предположить вовлеченность данных микроРНК в процесс посттранскрипционной регуляции изучаемых генов.

**Закключение.** Полученные сведения расширяют существующие представления о молекулярных механизмах ускользания опухоли от действия иммунного надзора и могут быть использованы для создания новых лекарственных средств на основе коротких молекул РНК.

## Низкомолекулярные соединения из лекарственных грибов ингибируют онкоассоциированные метаболические процессы в клеточных моделях карциномы легкого

Ю.Н. Кирдеева, А.А. Дакс, Н.А. Барлев, О.Ю. Шувалов  
ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург  
e-mail: yulia.kirdeeva@yandex.ru

**Введение.** В настоящее время в мире наблюдается тенденция по изучению ряда природных соединений, выделенных из лекарственных грибов, которые проявляют противоопухолевую активность. В клинической практике восточных стран многие виды соединений, полученные из грибов, используют в терапии различных неоплазий. Согласно данным литературы, противоопухолевые свойства лекарственных грибов обусловлены, главным образом, полисахаридами и низкомолекулярными соединениями, основными из которых



являются полифенолы и терпены. В отличие от полисахаридов, которые воздействуют на противоопухолевый иммунный ответ, молекулярные механизмы, опосредующие противоопухолевую активность низкомолекулярных соединений, остаются малоизученными.

**Цель исследования** — изучение противоопухолевых свойств различных низкомолекулярных соединений из лекарственных грибов в клеточных моделях карциномы легкого человека.

**Материалы и методы.** На основе данных литературы нами были отобраны низкомолекулярные соединения, выделенные из лекарственных грибов и обладающие множественной фармакологической активностью: гиспидин, гисполон, кордицепин, ганодеровая и траметоновая кислоты, инотодиол. В результате скрининга на цитотоксичность (МТТ-анализ) мы отобрали наиболее эффективные вещества и исследовали их влияние на апоптоз, клеточный цикл, активные формы кислорода, аутофагию (проточная цитометрия) и энергетический метаболизм опухолевых клеток (ПЦР-РВ, технология SeaHorse).

**Результаты.** Гисполон и кордицепин проявили наиболее выраженное ингибирующее действие на опухолевые клетки и индуцировали апоптоз, при этом влияние кордицепина и гисполон на неопухолевые клетки было значительно менее выражено. Также было показано, что кордицепин и гисполон вызывали арест клеточного цикла, повышали продукцию активных форм кислорода, активировали аутофагию и снижали энергетический метаболизм в клеточных моделях НМРЛ. Кроме того, кордицепин и гисполон подавляли экспрессию ферментов гликолиза, одноуглеродного метаболизма и метаболизма жирных кислот.

**Закключение.** Показаны противоопухолевые свойства низкомолекулярных грибных соединений гисполон и кордицепина и их ингибирующее влияние на онкоассоциированные метаболические процессы.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 24-45-04002).*

## Анализ цитотоксичности и противоопухолевой активности новых гетерометаллических координационных соединений как перспективных терапевтических средств

О.Г. Ковтун<sup>1</sup>, А.А. Лушникова<sup>1</sup>, И.С. Голубева<sup>1</sup>,  
О.С. Бурова<sup>1</sup>, А.А. Рудакова<sup>1</sup>, А.В. Гавриков<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>ФБГУ «ИОНХ им. Н.С. Курнакова РАН», Москва  
e-mail: miss.olga.kovtun@gmail.com

**Введение.** Ранее мы обнаружили избирательную цитотоксичность новых гетерометаллических координационных соединений (ГКС) для линий опухолевых клеток меланомы кожи, глиобластомы, рака поджелудочной железы, рака почки и изучили механизмы индукции клеточной гибели. Исследование ГКС позволит обосновать их перспективность для совершенствования терапии злокачественных опухолей.

**Цель исследования** — оценка цитотоксичности 4 ГКС на 2 линиях клеток РЛ *in vitro* и их противоопухолевой активности на мышинных моделях *in vivo*.

**Материалы и методы.** Материалом служили клеточные линии РЛ мыши (LL-2) и человека (NCI-H460) и эпидермоидная карцинома легкого Lewis (LLC) — 5-й пассаж штамма LLCin vivo из Банка опухолевых штаммов НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, перевиваемая каждые 12 дней подкожно самкам мышей линии C<sub>57</sub>Bl/6. ГКС вводили в правую подмышечную область по 0,5 мл (50 мг) взвеси опухолевых клеток при разведении 1:10, Medium-199. Изучали ГКС типа [M(phen)<sub>3</sub>][Y(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>] и [M(bpy)<sub>3</sub>][Y(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>], где M = Zn<sup>2+</sup>Co<sup>2+</sup>, phen = C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub> (1,10-фенантролин), bpy = C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub> (2,2-бипиридил). Выживаемость опухолевых и нормальных клеток оценивали путем МТТ-тестов. Возможные клеточные мишени для ГКС анализировали с помощью базы данных PDB, вестерн-блоттинга и биоинформатического анализа по протоколу Rosetta Ligand/Rosetta Online Server.

**Результаты.** Обнаружена цитотоксичность тестированных ГКС для обеих линий опухолевых клеток, до 10,9 % выживших клеток — [Co(bpy)<sub>3</sub>][Y(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>] и 6,2 % — [Zn(phen)<sub>3</sub>][Y(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>], IC<sub>50</sub> = 2 мкг/мл, выживаемость нормальных фибробластов — 80 %. Механизм цитотоксичности ГКС связан с ингибированием семейства интегральных мембранных белков аквапоринов AQP, регулирующих водно-солевой и энергетический балансы и гиперэкспрессированных в активно пролиферирующих опухолевых клетках. Биоинформатический анализ подтвердил наличие межмолекулярных взаимодействий между ГКС и белками семейства AQP, с оценкой взаимодействия (scores) = −20 ккал/моль, что указывает на образование энергетически стабильных межмолекулярных комплексов путем множества

водородных связей. Ингибирование ряда АQP с помощью ГКС приводит к нарушению регуляции активированных сигнальных путей EGFR-PI3K-AKT-mTOR; EGFR-RAS-RAF, митоптозу и ядрышковому стрессу с последующей гибелью опухолевых клеток. Предварительные опыты *in vivo* позволили подобрать лечебные дозы ГКС с  $Zn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  для 5-кратного введения внутрибрюшинно и достижения ТРО.

**Заключение.** ГКС, содержащие  $Zn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ , представляют интерес для малотоксичной мультитаргетной терапии опухолей, включая опухоль легкого.

## Скрининг прививаемости меланомы B16/F10 у мышей на фоне употребления пищевых микроорганизмов

В.А. Колдман, С.Д. Колдман, Г.А. Крусанов, А.В. Белоусов

ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский  
и клинический центр физико-химической медицины  
им. А.Н. Лопухина ФМБА», Москва  
e-mail: epistularum@mail.ru

**Введение.** В настоящее время микробиота кишечника и ее влияние на появление и развитие ЗНО представляют интерес для исследователей. Появляется все больше данных о непосредственном участии пробиотиков в регулировке онкологического процесса. В том числе на появление и развитие новообразований могут влиять микроорганизмы, не являющиеся пробиотиками, однако используемые в пищевой промышленности (молочные продукты) либо в качестве биологически активных добавок к пище (цианобактерии).

**Цель исследования** — определить влияние основных пробиотических штаммов, а также некоторых бактериальных пищевых добавок и промышленных микроорганизмов на прививаемость и рост меланомы B16/F10, а также на массу и состояние здоровых мышей.

**Материалы и методы.** Используемые культуры микроорганизмов *Arthrospira platensis*, *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, *Lactocaseibacillus rhamnosus*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremosus*, *Propionibacterium freudenreichii*, *Streptococcus thermophilus* вводились мышам перорально на протяжении 2 нед перед инокуляцией меланомы и далее до окончания эксперимента — всего 5 нед.

**Результаты.** Ни одна из применяемых культур при длительном введении не оказывала негативного влияния на здоровых мышей. Употребление *Propionibacterium freudenreichii* и *Streptococcus thermophilus* приводило к уменьшению массы мышей по отношению к контролю на 3 %, однако также не сопровождалось признаками угнетения.

Из перечисленных культур, *B. adolescentis* способствовали прививаемости, ускоряя ее на 3 дня по сравнению с контролем. *B. adolescentis* также значительно способствовали росту опухоли (68 % на 18-й день). В то время как применение *S. thermophilus*, *L. acidophilus*, *P. freudenreichii* тормозило прививаемость на 7, 5 и 4 дня соответственно. Цианобактерия *A. platensis* тормозила прививаемость опухоли на 3 дня, однако способствовала дальнейшему росту привившейся опухоли на 30 %. Остальные исследованные культуры не повлияли на прививаемость меланомы мышей, влияние на прогресс опухоли также было незначительным.

**Заключение.** Таким образом, потребление пробиотиков и продуктов, содержащих живые пищевые микроорганизмы, может оказывать влияние на вероятность возникновения ЗНО, а также на развитие уже обнаруженного. Однако конкретный механизм регуляции требует дальнейших исследований.

## *S. thermophilus* – перспективный иммуномодулятор для терапии злокачественных новообразований

С.Д. Колдман, В.А. Колдман

ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский  
и клинический центр физико-химической медицины  
им. А.Н. Лопухина ФМБА», Москва  
e-mail: epistularum@mail.ru

**Введение.** Бактерия *S. thermophilus* не является популярным пробиотиком, однако широко используется в пищевой промышленности при изготовлении йогурта, кефира, ряженки, сыров и, таким образом, является неотъемлемой частью пищевого рациона современного человека. В предыдущем исследовании мы провели скрининг влияния пищевых микроорганизмов на рост и развитие ЗНО на примере меланомы B16/F10. Было рассмотрено 11 штаммов, из которых *S. thermophilus* оказался наиболее перспективным для дальнейшего изучения.

**Цель исследования** — углубленное изучение эффекта приема *S. thermophilus* в различных формах на протекание онкологического процесса, в том числе в комбинации с иммуностимулирующим облучением гамма-радиацией (0,5 Гр, 0,85 Гр/мин).

**Результаты.** Введение в рацион мышей концентрата *S. thermophilus* на протяжении 2 нед до инокуляции опухоли затормозило прививаемость на 5–11 дней; на протяжении 5 нед — привело к полному отсутствию прививаемости меланомы при 100 % прививаемости у контрольной группы, не получавшей концентрат. Не привившиеся мыши наблюдались в течение 65 дней, чтобы убедиться в отсутствии отложенного развития опухоли.

Дальнейшее наблюдение выявило торможение роста опухоли на 62 % на 18-й день после прививки. Добавление иммуностимулирующего воздействия (тотального облу-

чения в дозе 0,5 Гр при мощности дозы 0,85 Гр/мин) дало торможение роста опухоли на 91 % относительно контроля на 18-й день после прививки.

Моделирование клинической ситуации с началом приема *S. termofilus* после обнаружения хорошо пальпируемой опухоли было проведено в 2 вариантах: ежедневное введение в рацион бактериального концентрата и кисломолочного продукта, полученного путем переработки молока *S. termofilus*, — что привело к торможению роста опухоли в среднем на 34 и 19 % соответственно. Добавление иммуностимулирующего облучения в момент обнаружения опухоли в этом эксперименте не оказало существенного влияния.

**Заключение.** Таким образом, *S. termofilus* можно рассматривать как иммуномодулятор для адъювантной терапии ЗНО, а также в качестве пищевого продукта для онкобольных и для употребления лицами, имеющими повышенные профессиональные риски канцерогенеза (вредные производства и др.). Более точное понимание механизмов воздействия *S. termofilus* на опухолевый процесс требует дальнейшего изучения, и в настоящее время нами проводятся исследования по данной теме.

## Цитотоксический эффект производных N-гидроксипутанамида с доксорубицином на опухолевых клетках разного происхождения

К.А. Колесова<sup>1,2</sup>, В.А. Мумятова<sup>2</sup>, Н.В. Филатова<sup>2</sup>,  
Б.А. Третьяков<sup>2</sup>, С.Я. Гадомский<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт  
(национальный исследовательский университет)», Москва;

<sup>2</sup>ФГБУН «ФИЦ проблем химической физики и медицинской  
химии РАН», Черноголовка  
e-mail: caryinne@list.ru

**Введение.** Доксорубин является одним из часто применяемых средств в противоопухолевой терапии. Препарат обладает активностью против широкого ряда опухолей, однако клиническое применение доксорубина ограничено рядом побочных эффектов, главным из которых является кумулятивная, дозозависимая кардиотоксичность. Одним из подходов к преодолению ограничений применения доксорубина является усиление чувствительности опухолевых клеток к его воздействию при помощи ингибиторов HDAC. В настоящее время ингибиторы HDAC активно исследуются как перспективные противоопухолевые средства, в том числе в комбинации с традиционными противоопухолевыми препаратами. Ожидается, что такой комбинационный подход позволит ослабить побочные эффекты и повысить эффективность лечения доксорубином.

**Цель исследования** — изучение HDAC-ингибирующих свойств новых производных N-гидроксипутанамида,

исследование противоопухолевого эффекта комбинации новых соединений с доксорубином.

**Материалы и методы.** Эксперименты проводили на культурах опухолевых клеток HeLa (карцинома шейки матки человека) и HepG2 (гепатоклеточная карцинома человека). Оценку HDAC-ингибирующей активности соединений проводили с помощью наборов Fluorogenic HDAC (1, 3, 6, 8) assay kit (BPS Bioscience, США), а также по способности ингибировать деацетилирование гистона H3 с использованием методов электрофореза и иммуноблоттинга. Цитотоксичность соединений и их комбинаций с доксорубином исследовали с помощью МТТ-теста. Влияние соединений на профиль клеточного цикла изучали методом проточной цитофлуориметрии.

**Результаты.** Обнаружено, что исследуемые соединения проявляют HDAC-ингибирующую активность *in vitro*. При этом наиболее выраженный эффект наблюдается в отношении HDAC3. В концентрации 250 мкМ через 8 ч производные N-гидроксипутанамида вызывают ацетилирование гистона H3 в клетках HeLa, которое сохраняется в течение 24 ч. На клетках HepG2 такой эффект не наблюдается. Предварительная обработка клеток исследуемыми соединениями за 24 и 48 ч до введения доксорубина приводит к усилению цитотоксического действия препарата на 10–30 % специфично для клеток HeLa. Анализ профиля клеточного цикла при действии соединений и их комбинаций с доксорубином показал, что при введении соединений за 48 ч до доксорубина наблюдается увеличение погибших клеток в сравнении с действием самого препарата. При этом производные N-гидроксипутанамида не оказывают влияния на профиль клеточного цикла в сравнении с контролем.

**Заключение.** Исследуемые новые производные N-гидроксипутанамида проявляют HDAC-ингибирующую активность и усиливают цитотоксическое действие доксорубина специфично на клетках линии HeLa.

Работа выполнена в рамках государственного задания № 124020500019-2.

## Влияние акридонуксусной кислоты на выживаемость и сигнальные пути в опухолевых клетках человека

П.Е. Кораблева<sup>1</sup>, А.А. Дакс<sup>1</sup>, Н.А. Барлев<sup>1,2</sup>, И.А. Невзоров<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Назарбаев Университет, Астана, Казахстан  
e-mail: korablevapolina936@gmail.com

**Введение.** Акридонуксусная кислота (СМА) является активным веществом препарата циклоферон и используется в терапии вирусных заболеваний. Было показано, что СМА действует через STING/IRF3-сигнальный каскад: она связывается с белком STING и запускает

TBK1/IRF3-сигнальный путь, что приводит к фосфорилированию IRF3. Фосфорилированный IRF3 направляется в ядро, где влияет на экспрессию ИФН 1-го типа, а также ряда других генов. Известно, что в Т-клетках мышей *CMA* влияет на экспрессию генов *Puma*, *Noxa* и вызывает гибель клеток.

Некоторое время в связи с различиями в структуре белка STING человека и мыши ставилась под сомнение возможность *CMA* оказывать влияние на клетки человека, однако было показано, что в мононуклеарных клетках периферической крови человека *CMA* может вызывать апоптоз через активацию митохондриально-го стресса.

**Цель исследования** — на опухолевых клетках человека показать влияние *CMA* на белки STING-каскада, белки, связанные с апоптозом, а также на выживаемость клеток.

**Материалы и методы.** Для исследования были выбраны клеточные линии H1299, MDA-MB-468, K562 и NB4. Исследование содержания белков проводилось методом вестерн-блоттинга. Экспрессия оценивалась методом ПЦР-РВ; выживаемость — методом окраски йодидом пропидия (PI) и проточной цитофлуориметрии.

**Результаты.** По данным вестерн-блоттинга *CMA* оказывает влияние на белки STING/IRF3-пути: наблюдается увеличение фосфорилированной формы TBK1 и STING, а также увеличение содержания IRF3. Также по данным ПЦР-РВ повышается экспрессия TBK1 и ряда проапоптотических генов: *Puma*, *Bak* и *p53*.

Проведен анализ выживаемости клеток различных типов рака в присутствии *CMA*. Было показано, что наименьший эффект *CMA* оказывает на клетки линии РЛ человека H1299, которая отличается минимальной экспрессией STING. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что проапоптотический эффект *CMA* может зависеть от активности STING/IRF3-сигнального пути и от экспрессии STING.

**Заключение.** *CMA* оказывает влияние на запуск STING-каскада и экспрессию проапоптотических генов в опухолевых клетках человека, а также на выживаемость этих клеток. При этом действие данного препарата зависит от экспрессии STING.

## Нуклеолин как ключевой фактор опухолевой прогрессии и мишень для мультитаргетной терапии новообразований катионными пептидами

Н.А. Королева<sup>1</sup>, А.А. Лушникова<sup>1</sup>, А.А. Рудакова<sup>1</sup>,  
М.В. Кирпиченко<sup>1</sup>, О.С. Бурова<sup>1</sup>, А.В. Балбучий<sup>1</sup>,  
С.М. Андреев<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>ФБГУ «ГНЦ «Институт иммунологии ФМБА России», Москва  
e-mail: nat.korolev@yandex.ru

**Введение.** Нуклеолин (NCL) — шаперонный белок с киназной активностью — играет ключевую роль в регуляции клеточного цикла, транскрипции, трансляции, сигналинга, дифференцировки и выживания клеток. Ранее мы выявили гиперэкспрессию NCL (гликозилированный димер) в ядре и на поверхности опухолевых клеток как *in vitro*, так и *in vivo* — в ксенографтах и биоптатах опухолей разного происхождения по сравнению с нетрансформированными клетками.

**Цель исследования** — анализ дифференциальной экспрессии NCL в опухолевых клетках как фактора прогрессии неоплазий и мишени для их терапии.

**Материалы и методы.** Клеточные культуры, полученные из метастазов и первичных опухолей, включая меланому кожи, гепатокарциному, глиобластому, РМЖ, РЯ, рак поджелудочной железы, РТК, светлоклеточный ПКР, ГИСО. Клинический материал — хирургические биоптаты. Уровни экспрессии кодирующего гена и белка NCL оценили с помощью ОТ-ПЦР, вестерн-блоттинга с использованием меченых моноклональных АТ и проточной цитометрии, в ряде случаев — ИГХ. Для оценки и сравнения уровней экспрессии/анализа изображений использовали пакет MatLab. Гипотезу о роли NCL как маркера опухолевой прогрессии подтвердили с помощью молекулярного докинга NCL — мишени с ингибирующими лигандами — 4 катионными пептидами с дендримерной структурой (дКП), синтезированными твердофазным методом с использованием Fmoc-защитных групп.

**Результаты.** Перемещение молекул NCL на поверхность опухолевых клеток с последующей гиперэкспрессией сопровождается активацией онкогенных сигнальных путей, включая EGFR, NF-κB, Wnt, Ras. Наблюдали активацию HIF-1α и продуцируемых макрофагами из микроокружения опухолей IL-10 и TGFβ, утрату эпителиальных маркеров (Е-кадгерина, цитокератина), появление мезенхимальных маркеров фибронектина, β-катенина и N-кадгерина ЭМП и снижение межклеточной адгезии, что может привести к миграции клеток и метастазированию. Активация MAPK и PI3K-Akt сигналинга и фактора транскрипции Sp1 также способствует усилению пролиферации опухолевых клеток. Экспери-



ментально и путем компьютерного моделирования мы показали, что дКП резко снижают пролиферацию опухолевых клеток путем ингибирования активности NCL с последующей индукцией апоптоза.

**Заключение.** Дифференциальная экспрессия NCL на поверхности опухолевых клеток позволяет рассматривать нуклеолин как мишень для мультитаргетной противоопухолевой терапии с помощью препаратов на основе дКП.

### Оценка влияния блокады кальретикулина в реализации иммуногенных свойств регулируемой гибели клеток глиомы

С.С. Куликов<sup>1</sup>, О.Д. Оладжиде<sup>1</sup>, Е.Н. Горшкова<sup>1</sup>,  
Е.Л. Гурьев<sup>1</sup>, И.В. Балалаева<sup>1</sup>, Д.В. Крысько<sup>1-3</sup>,  
М.В. Ведунова<sup>1</sup>, Т.А. Мищенко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский  
Нижегородский государственный университет  
им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород;

<sup>2</sup>Лаборатория исследования и терапии гибели клеток (CDIT),  
кафедра анатомии и регенерации человека, Гентский  
университет, Гент, Бельгия;

<sup>3</sup>Институт исследования рака, Гент, Бельгия  
e-mail: sazo019@mail.ru

**Введение.** Молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением (DAMPs), заслуживают особого внимания в активации иммуногенных свойств регулируемой гибели опухолевых клеток. Выход DAMPs из погибающих клеток выступает в качестве адьювантного сигнала для антигенпрезентирующих клеток (дендритных клеток) к активному поглощению патологических антигенов и их последующей кросс-презентации главным комплексом гистосовместимости клеткам адаптивной иммунной системы для формирования стойкого противоопухолевого иммунного ответа и иммунологической памяти. В условиях регулируемой гибели опухолевых клеток происходит выход целого ряда DAMPs, однако вопрос о том, какой из них является ключевым звеном в реализации иммуногенных свойств, остается открытым.

**Цель исследования** — оценить роль кальретикулина (CRT) в изменениях фенотипического статуса первичных культур дендритных клеток костного мозга мыши при их сокультивировании с клетками глиомы, погибающих по пути регулируемой клеточной смерти.

**Материалы и методы.** Методом CRISPR/Cas9 была получена стабильная клеточная линия клеток глиомы мыши GL261 с нокаутом гена CRT (GL261bCRT). Клетки постоянной клеточной линии глиомы дикого типа (GL261) и клетки GL261bCRT были подвергнуты индукции по одному из механизмов регулируемой клеточной смерти. Мертвые/умирающие клетки глиомы были сокультивированы с клетками первичной культуры дендритных клеток костного мозга мыши в соот-

ношениях 1:5 и 1:10. Изменения фенотипического статуса дендритных клеток анализировали методом проточной цитометрии с использованием проточного цитофлуориметра LongCyte C3140 (Challenbio, Китай).

**Результаты.** Блокада CRT играет важную роль в активности созревания дендритных клеток и динамике появления костимулирующих молекул CD40+, CD80+ и CD86+ на поверхности антигенпрезентирующих клеток в присутствии клеток глиомы, умирающих/погибших по пути регулируемой клеточной смерти.

*Работа выполнена при поддержке Программы стратегического академического лидерства «ПРИОРИТЕТ-2030» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.*

### Синтетическая летальность как подход к лечению нейробластомы – опухоли с широкомасштабной дерегуляцией транскрипции

О.А. Кучур<sup>1</sup>, С.С. Погодаева<sup>1</sup>, О.О. Милетина<sup>1</sup>,  
А.А. Штиль<sup>2</sup>, Н.В. Антипова<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Химико-биологический кластер, Университет ИТМО,  
Санкт-Петербург;

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

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт биоорганической химии  
им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН», Москва  
e-mail: kuchur@scamt-itmo.ru

Нейробластома — гетерогенная опухоль из клеток симпатической нервной системы, характеризующаяся патогенетически различными молекулярными подтипами: адренергическим (ADRN) и мезенхимальным (MES). Применяемые методы лечения наталкиваются на значительные трудности из-за резистентности и пластичности опухоли, особенно в подтипе MES. Новые исследования транскрипционной регуляции подчеркнули особую роль группы транскрипционных факторов, составляющих core regulatory circuit (CRC), в формировании и поддержании «молекулярных портретов» и биологического поведения подтипов нейробластомы.

Новой терапевтической стратегией воздействий на CRC в ADRN и MES подтипах является синтетическая летальность. Этот феномен возникает в случаях, когда инактивация двух генов или их продуктов приводит к гибели клеток, тогда как блокирование каждого гена в отдельности нелетально. Выраженный дисбаланс транскрипции в нейробластоме — характерная особенность опухолей детского возраста — обуславливает терапевтическое нацеливание на CRC-формирующие факторы транскрипции PHOX2B, ASCL1 и GATA3 в подтипе ADRN, а также SNAIL2 и YAP1 в MES.

Противоопухолевый потенциал синтетической летальности при нейробластоме исследуется с помощью блокирования компонентов CRC в комбинациях с эпи-

генетическими модификаторами — ингибированием BRD4, циклинзависимых протеинкиназ и гистондеацетилаз с целью вмешательства в транскрипционные программы подтипов. Актуальна стратегия перепрограммирования клеток MES в менее агрессивный подтип ADRN. Новые направления включают использование синтетической летальности в сочетании с иммунотерапией и метаболическими ингибиторами для создания персонализированных методов лечения нейробластомы высокого риска.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 24-15-00097).*

## Метод определения типа ингибиторов PARP1/2

А.А. Лобанова<sup>1</sup>, А.Н. Коровина<sup>1</sup>, Д.О. Кошкина<sup>1</sup>,  
П.А. Черникова<sup>1</sup>, А.В. Феофанов<sup>1</sup>, В.М. Студитский<sup>1,2</sup>,  
Д.К. Нилов<sup>3</sup>, Н.В. Малоченко<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Центр исследований рака Фокс Чейз, Филадельфия, США;

<sup>3</sup>НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского  
ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва  
e-mail: angelina.lobanova@student.msu.ru

**Введение.** PARP-1 и PARP-2 являются мишенями для препаратов направленного действия при лечении онкологических заболеваний. Определение механизма воздействия ингибиторов на ДНК-связывающую и каталитическую активность PARP-1 и PARP-2 необходимо для разработки новых ингибиторов. Ранее биофизическими методами было показано, что ингибиторы PARP разделяются на 3 типа. Ингибиторы I типа оказывают обратный аллостерический эффект, увеличивая сродство PARP к ДНК, а также ингибируют каталитическую активность белков. Ингибиторы II типа действуют лишь на каталитическую активность PARP. Ингибиторы III типа проявляют аллостерический эффект, снижая сродство PARP к ДНК, а также ингибируют каталитическую активность.

**Цель исследования** — с использованием ингибиторов талазопариба, олапариба и велипариба показать, что метод электрофореза в полиакриламидном геле в нативных условиях позволяет оценить влияние тестируемых соединений на ДНК-связывающую и каталитическую активность PARP-1 и PARP-2. Благодаря простоте и доступности данный метод может служить альтернативой для проведения скрининга химических соединений на способность ингибировать PARP-1 и PARP-2 и определять тип ингибирования.

**Материалы и методы.** Использованы двуцепочечная ДНК длиной 187 п.н.; рекомбинантные белки PARP-1 и PARP-2; талазопариб, олапариб и велипариб. Методы: ПЦР; клонирование; аффинная хроматография; гель-фильтрация; гель-электрофорез в нативных условиях.

**Результаты.** Результаты исследования талазопариба и олапариба с применением метода гель-электрофореза согласуются с результатами, полученными ранее другими методами: для PARP-1 данные соединения являются ингибиторами II типа, а для PARP-2 — ингибиторами I типа. Данные гель-электрофореза подтверждают, что велипариб действует на PARP-2 как ингибитор III типа. В то же время исследование методом гель-электрофореза не позволяет отнести велипариб к ингибиторам III типа для PARP-1, так как влияние велипариба на ДНК-связывающую активность PARP-1 не было обнаружено.

**Закключение.** Метод гель-электрофореза в нативных условиях расширяет ограниченный набор методов, которые применимы для исследования механизмов действия ингибиторов ферментов PARP-1 и PARP-2, позволяя определять влияние ингибиторов как на ДНК-связывающую, так и на каталитическую активность ферментов.

*Получение белков PARP-1 и PARP-2 поддержано РНФ (грант № 19-74-30003).*

## Экспрессия HER2 в опухолевых клетках культур рака молочной железы, полученных из образцов люминального А подтипа

А.С. Могилених<sup>1,2</sup>, М.Ю. Дерюгин<sup>1,2</sup>, О.В. Мадиярова<sup>1</sup>,  
С.В. Сазонов<sup>1,2</sup>, С.М. Демидов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ГАОУ СО «Институт медицинских клеточных технологий»,  
Екатеринбург;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский  
университет» Минздрава России, Екатеринбург  
e-mail: annasajler@yandex.ru

**Введение.** Низкий уровень экспрессии HER2 на опухолевых клетках РМЖ может влиять на резистентность к терапии и определять смену стратегии лечения пациенток. Люминальный А подтип характеризуется наличием рецепторов эстрогена или прогестерона, низким уровнем Ki-67 и отрицательным HER2-статусом.

**Цель исследования** — оценить изменения экспрессии рецептора HER2 в клетках первичных культур РМЖ с нулевого по пятый пассаж (p0–p5).

**Материалы и методы.** В исследование включен 21 хирургический образец РМЖ с подтвержденным ИГХ-исследованием люминальным А подтипом, среди которых 10 имели низкий уровень экспрессии HER2 (I группа). Из образцов получали первичные клеточные культуры. Оценка экспрессии HER2 с p0–p5 производилась на проточном цитофлуориметре Navios 10 (Beckman Coulter, США) с накоплением не менее 5000 событий. Использовали моноклональные мышиные антитела к HER2 (клон 24D2, Brilliant Violet 421™, Biolegend, США).

**Результаты.** Как в культурах, полученных из образцов с отсутствием экспрессии HER2, так и в культурах с низким уровнем экспрессии HER2 (II группа) данный маркер обнаруживается с р0–р4. На р0 в каждой группе выявлено по одной культуре с большим количеством клеток, экспрессирующих HER2 — 41,4 и 35,7 % соответственно. В остальных случаях количество опухолевых клеток с экспрессией HER2 небольшое: в I группе —  $7,4 \pm 1,3$  (ДИ 4,1–10,8), во II —  $6,3 \pm 0,8$  (ДИ 3,6–8,6). На р1–р2 увеличивается количество клеток с экспрессией до  $20,2 \pm 3,9$  (ДИ 12,1–28,3) и  $14,5 \pm 4,2$  (ДИ 5,1–24,1) соответственно ( $p = 0,3$ ). На р3–р4 количество клеток с экспрессией уменьшается: в I группе до  $5,2 \pm 0,8$  (ДИ 3,4–7,1), во II —  $6,2 \pm 1,8$  (ДИ 2,3–10,1),  $p > 0,05$ . На р5 в I группе клетки с экспрессией HER2 не обнаружены, во II группе сохраняется небольшое количество клеток — в среднем  $6,5 \pm 2,6$  (ДИ 0,1–12,6), однако в одной из культур увеличение числа с экспрессией HER2 достигло 21,7 %.

**Закключение.** Культуры, полученные из образцов люминального А подтипа РМЖ, содержат клетки, экспрессирующие HER2, независимо от уровней его экспрессии на клетках первичной опухоли. Количество клеток с экспрессией изменяется в процессе культивирования, наибольшая популяция клеток представлена на первых пассажах. К р5 в культурах клеток из опухолей с исходным отрицательным уровнем экспрессии HER2 (0–1) клетки с экспрессией уже не определяются.

## Особенности химеризма после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у детей с апластической анемией

Г.А. Морозова, Л.Л. Лебедева, А.В. Лифшиц,  
Д.А. Скобеев, Г.О. Бронин

ГБУЗ г. Москвы «Морозовская детская городская  
клиническая больница ДЗМ», Москва  
e-mail: morgalina@yandex.com

**Введение.** Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) является основным методом лечения у больных с приобретенными и конституциональными апластическими анемиями (АА). Гемопоэз реципиента и донора может сосуществовать после ТГСК в одном организме, соотношение этих клеток называется химеризмом. Исследование химеризма позволяет оценить приживление донорских клеток, аутологичное восстановление либо отторжение трансплантата.

**Цель исследования** — изучить влияние смешанного химеризма (СХ) гемопоэтических клеток на приживление трансплантата и его связь с отторжением трансплантата у пациентов с АА.

**Материалы и методы.** Исследование химеризма осуществлялось путем определения InDel мишенной методом количественной ПЦР-РВ в костном мозге и периферической крови на 30, 60, 100, 180, 365-е сутки после ТГСК. Полный донорский химеризм (ПДХ) определялся как присутствие 98 % донорских клеток; СХ — как наличие от 5 до 98 % донорских клеток.

**Результаты.** В исследование были включены 36 детей в возрасте от 1 до 18 лет (медиана 9 лет): с идиопатической АА — 25, анемией Фанкони — 6, анемией Даймонда–Блэкфена — 5. Больным было проведено всего 40 ТГСК после миелоаблативного кондиционирования в период с 2020 по 2024 г. Повторные ТГСК в связи с отторжением трансплантата выполнены 4 пациентам. 26 больным была проведена родственная ТГСК и 14 — неродственная ТГСК. Источником трансплантата явились периферические стволовые клетки крови для 25 (62,5 %) пациентов и костный мозг для 15 (37,5 %). Приживление трансплантата констатировано в 38 (95 %) случаях. Одна пациентка с идиопатической АА в связи с неприживлением погибла на 39-е сутки после ТГСК, 1 пациентке с анемией Даймонда–Блэкфена в связи с неприживлением успешно выполнена повторная ТГСК от альтернативного неродственного донора. Стабильный ПДХ во все контрольные точки отмечался у 27 (67,5 %) пациентов. СХ был выявлен у 11 (27,5 %) детей. У 3 (7,5 %) пациентов наблюдалось отторжение трансплантата: у 1 пациента с анемией Фанкони — на 40-е сутки, у 1 пациента с анемией Даймонда–Блэкфена — на 55-е сутки, у 1 пациента с идиопатической АА — на 160-е сутки после ТГСК. На 30-й день после ТГСК у них был СХ — 48, 85 и 95 % соответственно. Всем этим пациентам выполнены успешные повторные ТГСК. Восемью пациентам со СХ проводились трансфузии донорских лимфоцитов, у 4 из них достигнут стабильный ПДХ. У оставшихся 4 больных, несмотря на трансфузию донорских лимфоцитов, отмечается персистенция СХ при удовлетворительной функции трансплантата; пациенты клинически здоровы, специфическое лечение не получают. Причем у 2 из них доля донорских клеток составляет 13 и 21 % при сроке наблюдения 2 и 3 года после ТГСК соответственно.

**Закключение.** СХ может сохраняться у пациентов с различными видами АА длительное время, без ущерба для функции трансплантата, не влияя на состояние пациента. Трансфузия донорских лимфоцитов эффективна в части случаев и позволяет предотвратить отторжение трансплантата с потерей его функции. Наиболее часто полное отторжение трансплантата встречается на ранних сроках в течение первого года после ТГСК у пациентов с СХ на 30-й день.

## Диагностика и лечение инфекции COVID-19 у пациентов с хроническим миелолейкозом

В.Г. Мустаця

Государственный университет медицины и фармации  
им. Н. Тестемицану, Департамент гематологии,  
Институт Онкологии, Кишинэу, Республика Молдова  
e-mail: vasile.musteata@usmf.md

**Введение.** Рост заболеваемости инфекцией COVID-19 у пациентов с гематологическими опухолями и распространенности ХМЛ среди социально активного населения можно отнести к важным проблемам общественного здравоохранения и онкологии.

**Цель исследования** — оценка эпидемиологических и диагностических аспектов, результатов лечения инфекции COVID-19 в сочетании с ХМЛ.

**Материалы и методы.** В проспективное исследование были включены 20 пациентов с ХМЛ, которые получали лечение и наблюдались в Онкологическом институте Молдовы в период с 2005 по 2023 г. COVID-19 был диагностирован только в этих случаях из всей когорты пациентов с ХМЛ, получавших лечение ИТК. Количественная ОТ-ПЦР была проведена для определения экспрессии транскриптов BCR-ABL p210 и p190. Тестирование с амплификацией нуклеиновых кислот при помощи ОТ-ПЦР было проведено для обнаружения РНК SARS-CoV-2 с целью первоначальной диагностики COVID-19.

**Результаты.** Включенные в исследование 20 случаев составили 13,9 % из 144 пациентов с диагнозом ХМЛ, которые находились на лечении ИТК. Соотношение мужчин и женщин составило 1,5:1 ( $p < 0,05$ ). Возраст пациентов на момент постановки диагноза COVID-19 составлял от 38 до 74 лет (средний возраст 52,8 года). Девять (45,0 %) пациентов были моложе 50 лет, 11 (55,0 %) — старше 50 лет и 7 (35,0 %) — старше 60 лет. Согласно классификации COVID-19 по версии ВОЗ, легкие формы были зарегистрированы в 5 (25,0 %) случаях, средние — в 10 (50,0 %) и тяжелые — в 5 (25,0 %). Оценка общего состояния больных ХМЛ по шкале ECOG на момент диагноза COVID-19 составляла от 0 до 2. Оценка ECOG составила 2 только у 2 (10,0 %) пациентов с активной хронической фазой, у которых наблюдалось тяжелое течение COVID-19. SARS-CoV-2 поразил 10 (50,0 %) пациентов с низким риском Sokal, 8 (40,0 %) — со средним риском и 2 (10,0 %) — с высоким риском ( $p > 0,05$ ). COVID-19 развился у 18 (90,0 %) пациентов с полным гематологическим ответом и у 2 (10,0 %) пациентов без устойчивого ответа на лечение ИТК. ХМЛ прогрессировал в ускоренную и острую фазы только в 2 (10,0 %) случаях с активной хронической фазой и тяжелой формой COVID-19.

**Заключение.** Инфекция SARS-CoV-2 чаще всего поражала пациентов с ХМЛ мужского пола и старшего

возраста. Они оказались более восприимчивы к COVID-19. Оценка по шкале Sokal не оказала влияния на заболеваемость COVID-19 у пациентов с ХМЛ. Пациентам с поздними фазами ХМЛ и тяжелым COVID-19 сопутствовал неблагоприятный прогноз обоих заболеваний.

## Исследование взаимодействия сигнального пути STING и онкосупрессора p53 в ответе клетки на цитотоксический стресс различного генеза

И.А. Невзоров<sup>1</sup>, П.К. Кораблёва<sup>1</sup>, Н.А. Барлев<sup>1,2</sup>, А.А. Дакс<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Назарбаев Университет, Астана, Казахстан

e-mail: nevzorovia 10@gmail.com

**Введение.** Белок STING (стимулятор генов ИФН) является основным элементом в активации провоспалительного ответа на попадание чужеродной ДНК в клетку. До недавнего времени считалось, что активация ИФН является единственной функцией данного белка, однако в последние годы стало известно, что в особых обстоятельствах активация STING может привести к активации апоптоза. Определение причин переключения STING-сигналинга с провоспалительного на проапоптотический позволит использовать активаторы STING в противоопухолевой иммунотерапии.

Активация STING сигнального каскада приводит к активации транскрипционных факторов IRF3 и IRF7, которые способствуют увеличению экспрессии генов ИФН.

**Цель исследования** — при помощи биоинформатического анализа показать, что и IRF3, и IRF7 способны связываться с промотерными и энхансерными участками проапоптотических генов, что позволяет предположить — активация апоптоза происходит за счет активности данных белков.

Белок p53 является одним из основных регуляторов апоптоза. Так как гены, кодирующие как p53, так и его транскрипционные мишени потенциально регулируются факторами IRF3 и IRF7, мы предполагаем, что STING может принимать участие в координации проапоптотической активности белка p53.

**Материалы и методы.** На клеточных линиях H1299 с экспрессией белка p53 различного типа мы показали, что наличие p53 дикого типа способствовало лучшей активации STING-сигнального пути по сравнению с клеточными линиями с отсутствием и мутантным вариантом p53. В результате обработки клеточных линий с различным уровнем экспрессии белка STING его агонистом мы наблюдали различие в экспрессии генов провоспалительного и проапоптотического ответов.



**Результаты.** В клетках с большей экспрессией STING наблюдалась более яркая активация ИФН и IL при одинаковом уровне воздействия. Дополнительно, на больших концентрациях СМА активация различных проапоптотических генов, в зависимости от уровня экспрессии STING: гена *Puma* для клеточной линии H1299 с низким уровнем экспрессии STING и гена *Bak* для клеточной линии NB4 с высоким.

**Закключение.** Полученные данные позволяют оценить влияние экспрессии белков p53 и STING на активацию STING-опосредованного апоптоза.

## Изучение возможности терапии злокачественных новообразований у собак онколитическими энтеровирусами человека

Д.О. Неймышева<sup>1</sup>, Е.А. Мухина<sup>2</sup>, С.С. Сологова<sup>3</sup>,  
Г.В. Ильинская<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Зооцентр Филипп, Одинцовский район;

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова  
Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва  
e-mail: neumyshevadaria@gmail.com

**Введение.** Современные методы лечения ЗНО не всегда приводят к продолжительной ремиссии и, тем более, к полному выздоровлению. К тому же, ХТ и таргетная терапия вызывают побочные эффекты, снижающие качество жизни пациентов. Именно поэтому в онкологии существует потребность в более эффективных и безопасных методах лечения. Одним из альтернативных вариантов противоопухолевой терапии являются онколитические вирусы — филогенетически гетерогенная группа вирусов, которые обладают способностью вызывать гибель раковых клеток, не затрагивая нормальные клетки организма.

Проблемы, обозначенные выше, актуальны и для ветеринарии.

**Цель исследования** — рассмотреть возможность применения онколитических энтеровирусов человека для лечения ЗНО у собак.

**Материалы и методы.** Были получены первичные культуры из резекционного опухолевого материала собак. Для исследования использовались аттенуированные штаммы различных групп энтеровирусов: полиовирусы, эховирусы, вирусы Коксаки типов А и Б, а также энтеровирус Б75. Оценку цитопатического действия и кинетики репликации вирусов производили с помощью метода серийных десятикратных разведений с подсчетом величины TCID<sub>50</sub> методом Рида—Менча. Также в рамках исследования было проведено экспериментальное лечение ЗНО у нескольких собак энтеровирусами. В зависимости от клинического случая вирусы применялись как само-

стоятельный вариант терапии либо в комбинации с хирургическим лечением.

**Результаты.** Из резекционного опухолевого материала собак была получена панель из 8 первичных клеточных культур. Характеристика полученных культур производилась при помощи иммуноцитохимического окрашивания. В результате из всех исследованных групп энтеровирусов онколитической активностью в отношении опухолевых культур собак обладали вирусы группы Коксаки. Наибольшим онколитическим действием обладал вирус Коксаки Б2, который также имел наибольшую репликационную активность в первичных раковых культурах собак. По результатам клинического применения энтеровирусов человека на собаках с различными типами рака была показана их потенциальная эффективность и безопасность.

**Закключение.** Полученные данные позволяют рассматривать энтеровирусы человека группы Коксаки Б в качестве альтернативного метода лечения онкологических заболеваний в ветеринарии.

## Разработка новых ингибиторов гистондеацетилаз

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

**Введение.** Гистоновые деацетилазы (HDAC) являются одними из важных молекулярных мишеней для терапии многих типов рака. Продолжаются активные поиски новых, более эффективных ингибиторов HDAC, в том числе селективных, для определенных подтипов, а также соединений с мультитаргетным действием.

**Цель исследования** — получение новых ингибиторов гистондеацетилаз, производных гидроксамовой кислоты и хиназолина, и оценка их биологических свойств.

**Материалы и методы.** Новые гидроксамовые кислоты на основе производных хиназолина синтезированы в НИИ ЭДиТО. Цитотоксическую активность соединений определяли с помощью МТТ-теста на клетках РТК HTC-116, карциномы легкого A549, РПЖ РС-3, РМЖ MCF-7. Уровень активности и селективность оценивали с помощью вестерн-блоттинга, анализируя накопление ацетилированных белков-субстратов — гистона H3 для HDAC класса I и  $\alpha$ -тубулина для HDAC6 класса IIb. Исследования *in vivo* выполнены на иммунокомпетентных мышах: самках линии Balb/c и гибридах F1 (C57Bl/6×DBA/2) массой 20–22 г.

**Результаты.** Полученные соединения обладают цитотоксической активностью в микромолярном диапазоне доз (IC<sub>50</sub> = 0,5–7 мкМ). Сравнение в вестерн-блот-анализе накопления ацетилированных форм гистона H3 и  $\alpha$ -тубулина в зависимости от концентрации соединений однозначно говорит о неселективном инги-

бироваании ими как ядерных, так и цитоплазматических HDAC. Видно, что подавление активности HDAC1/2/3 и HDAC6, близкое к максимальному уровню, происходит уже при концентрациях ингибиторов 1–3 мкМ, что сопоставимо с высокой противоопухолевой активностью данных соединений на различных линиях раковых клеток.

Противоопухолевую активность ингибиторов HDAC изучали на перевиваемых опухолях мышей LLC, меланоме B-16 и АКАТОЛ при ежедневном внутрибрюшинном введении. Соединения показали высокое непосредственное торможение роста опухоли при внутрибрюшинном введении после окончания лечения, к 4-му дню эффект снижался. Полученные результаты были сопоставимы с эффектом применения цисплатина на тех же опухолях.

**Заключение.** Полученные результаты показывают высокую противоопухолевую активность новых соединений, а также позволяют высказать предположение о возможном наличии у них дополнительной антитубулиновой активности.

### Супрамолекулярная система доставки на основе гиалуроновой кислоты для противоопухолевой терапии при гемобластозах

Е.А. Пашкина<sup>1</sup>, М.В. Быкова<sup>1</sup>, М.Т. Беришвили<sup>1</sup>,  
Я.А. Лазарев<sup>1,2</sup>, О.С. Боева<sup>1</sup>, И.М. Чжан<sup>3</sup>, В.А. Козлов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск;

<sup>3</sup>кафедра химии, Нанькайский университет, Тяньцзинь, Китай  
e-mail: pashkina.e.a@yandex.ru

В отличие от солидных опухолей, гемобласты формируются из кроветворной или лимфатической ткани. В связи со спецификой локализации гемобласты обладают рядом особенностей, приводящих к снижению эффективности терапии, повышению риска побочных эффектов, а также к высокому риску рецидива и развития рефрактерности к терапии. Таким образом, разработка таргетных систем доставки лекарственных средств для терапии гемобластозов является весьма актуальной. Одним из возможных способов достижения адресной доставки в опухоль может являться применение гиалуроновой кислоты в составе супрамолекулярного комплекса.

Супрамолекулярная система доставки на основе циклодекстрина (CD) и гиалуроновой кислоты (HA) была предоставлена сотрудником Химического колледжа Нанькайского университета профессором Ин-Мин Чжаном (Тяньцзинь, Китай). В качестве противоопухолевого средства использовался доксорубин (DOX). Нами был проведен анализ интернализации

данной системы и ее противоопухолевого действия на клетках линии Т-клеточной лимфомы 1301, эритромиелоидного лейкоза K562 и миеломоноцитарной лейкемии WENI-3. Было обнаружено, что система доставки, нагруженная DOX, оказывает более выраженный эффект на жизнеспособность опухолевых клеток по сравнению со свободным DOX, поскольку подавляет жизнеспособность клеток при использовании более низкой концентрации. Также проведена оценка противоопухолевого действия комплекса HACD–DOX в мышинной модели лейкемии с использованием клеток линии WENI-3. Было показано, что однократное введение HACD–DOX увеличивает продолжительность жизни исследуемых животных по сравнению с контрольной группой.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 23-25-00375).*

### Оценка свойств синтетических пептидов, взаимодействующих с рекомбинантными рецепторами, для иммунотерапии

С.В. Подлесных, Д.В. Шаньшин, А.И. Шаповал  
ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет», Барнаул  
e-mail: stepanpodlesnykh@gmail.com

**Введение.** Молекулы контроля иммунитета регулируют полярность, силу и завершение иммунного ответа. Комплексы лиганд-рецептор – B7-1/B7-2/CTLA-4 и PD-L1/PD-L2/PD-1 – играют важную роль в активации или ослаблении иммунитета. Опухолевые клетки используют эти молекулы, чтобы уйти от иммунного ответа. Сейчас широко известно, что введение мАТ против CTLA-4, PD-1 и PD-L1 реактивирует иммунный ответ у пациентов и приводит к повышению выживаемости. Однако использование мАТ в клинике имеет ряд недостатков и нежелательные реакции, альтернатива – пептиды.

**Цель исследования** – выявление и изучение свойств синтетических пептидов, взаимодействующих с CTLA-4.

**Материалы и методы.** В работе применяли пептидные микрочипы (330 тыс. пептидов). Пептиды имеют случайную последовательность аминокислот. При помощи микрочипов проведен отбор пептидов, связывающихся с CTLA-4 и PD-1. Для этого использовали рекомбинантные химерные белки, содержащие ВКД молекулы CTLA-4 (или PD-1) и Fc-домен иммуноглобулина человека hIgG1.

**Результаты.** Выявлены 350 пептидов, которые взаимодействуют с CTLA-4Fc, B7-1, B7-2. Отобраны 19 пептидов и для анализа синтезированы 8 пептидов, которые связываются только с CTLA-4Fc, но не с другими рекомбинантными белками. Используя ИФА,

была подтверждена специфичность взаимодействия пептидов с рекомбинантными белками, при этом высокий сигнал выявлен для р339, р344, р345, р346. Далее с помощью компьютерного моделирования были построены модели комплекса «пептид-белок». При оценке комплексов для дальнейшего анализа был отобран р344. Конформация пептида р344 оказалась энергетически оптимальной вблизи петли <sup>99</sup>MYPPPY<sup>104</sup> молекулы CTLA-4. Ранее установлено, что петля <sup>99</sup>MYPPPY<sup>104</sup> CTLA-4 отвечает за связывание CTLA-4 с B7-1. На следующем этапе провели оценку кинетики межмолекулярного связывания синтетического пептида р344 с белком CTLA-4Fc, а также для рецептора и лиганда с помощью аппарата Octet K2 (ForteBio, BLI). Данная оценка показала уровень Kd для лиганда B7-1 с рецептором CTLA-4Fc —  $5 \times 10^{-10}$ , а для пептида р344 с белком CTLA-4Fc —  $8 \times 10^{-10}$ . Как видно, уровни имеют близкие значения, а для синтетического пептида демонстрируют высокую силу взаимодействия с белком CTLA-4Fc. Далее была проведена оценка способности выявленного пептида блокировать взаимодействие B7-1 с CTLA-4Fc. Инкубация CTLA-4Fc в присутствии р344 снизила связывание CTLA-4 с B7-1, то есть произошла блокада взаимодействия CTLA-4 и B7-1.

**Закключение.** В результате исследования выявлены пептиды, взаимодействующие с молекулой CTLA-4. Установлено, что пептид р344 имеет высокий уровень взаимодействия с молекулой CTLA-4 и способен блокировать взаимодействие CTLA-4 и B7-1. Представленный пептид р344 имеет потенциал для иммунотерапии.

### Экспрессия проапоптотических генов сигнальных путей апоптоза CFLAR и NOL3 в клетках рака почки человека (A498) под действием экстракта аврана лекарственного

Н.В. Полуконова, А.В. Полуконова, А.Г. Демин

ФБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов  
e-mail: polukonovanv@yandex.ru

**Введение.** Среди исследованных нами генов сигнальных путей апоптоза были отобраны проапоптотические гены, экспрессия которых в клетках рака почки человека (A498) под действием противоопухолевого экстракта аврана лекарственного изменялась по сравнению с контролем: CFLAR и NOL3. CFLAR кодирует белок-регулятор апоптоза CFLAR. Известно, что низкая копия гена в метастазирующей опухоли желудка связана с повышенной интенсивностью апоптоза. Продуктом NOL3 является РНК-связывающий белок NOL3, который ингибирует апоптоз.

**Цель исследования** — сравнить относительную экспрессию проапоптотических генов CFLAR и NOL3

в культуре клеток A498 под действием экстракта аврана и его наиболее активной фракции.

**Материалы и методы.** Оценку индукции апоптоза проводили набором Annexin-V FITC Apoptosis Kit; выделение РНК — Rneasy Plus Micro Kit; синтез кДНК на РНК — методом ОТ-ПЦР — RTI First Strand Kit; реакцию ПЦР-РВ — RTI Profiler PCR Array Human Cell Death Pathway Finder. Экспрессию генов оценивали в культуре клеток A498 под действием экстракта аврана при 0,02 и 0,3 мг/мл и его отдельной активной фракции.

**Результаты.** В контроле и при концентрации экстракта 0,02 мг/мл наблюдалась низкая экспрессия CFLAR. При 0,3 мг/мл и действии отдельной фракции экстракта, наряду с наличием апоптотических телец, отмечали повышение уровня экспрессии CFLAR; что может быть связано с более сложной, не приводящей напрямую к индукции апоптоза, регуляции, и в любом случае свидетельствует о включении CFLAR в сигнальный путь активации апоптоза в опухолевых клетках. В контроле при 0,02 мг/мл и отдельной фракции наблюдалась слабая экспрессия NOL3; при 0,3 мг/мл экспрессия заметно повышалась.

**Закключение.** Механизм действия экстракта аврана в концентрации 0,3 мг/мл в клетках A498 можно рассматривать как непрямую негативную регуляцию уровня белков-ингибиторов апоптоза, кодируемых проапоптотическими генами CFLAR и NOL3, в результате чего происходит, наоборот, индукция апоптоза. Противоопухолевое действие отдельной, даже наиболее активной фракции экстракта нетождественно действию целого экстракта с более широким спектром механизмов апоптотической активности.

### Новое гибридное соединение с антиоксидантными и NO-донирующими свойствами при совместном применении с противоопухолевыми препаратами

Т.Р. Приходченко<sup>1</sup>, А.А. Балакина<sup>1,2</sup>, В.И. Амозова<sup>1</sup>,  
В.Д. Соломатина<sup>1</sup>, Д.В. Мищенко<sup>1-3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН», Черноголовка;

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

<sup>3</sup>НОЦ ФГАОУ ВО «Государственный университет просвещения», Мытищи  
e-mail: t\_prikhodchenko@list.ru

**Введение.** Применяемые в медицинской практике высокие дозы противоопухолевых препаратов действуют не избирательно, повреждая тем самым здоровые клетки и ткани. Образующиеся при этих процессах свободные радикалы инициируют перекисное окисление липидов и усиливают окислительный стресс. Эта проблема может быть решена благодаря совместному использованию известных противоопухолевых препара-

ратов в комбинации с антиоксидантными соединениями на основе производных пиридоксина

**Цель исследования** — выявление антиоксидантных и NO-свойств нового гибридного соединения B6NO.

**Материалы и методы.** Эксперименты проводились *in vivo* на мышах линии BDF<sub>1</sub> на модели перевиваемой меланомы B16. В качестве противоопухолевых препаратов использовали цисплатин и доксорубин. Проводилась оценка выживаемости животных и роста экспериментальной опухоли. А также был проведен биохимический анализ крови лабораторных животных. Биохимические показатели определяли в сыворотке крови с использованием автоматического биохимического анализатора и наборов BioChem Analette (HTI, США) по методике производителя. Для эксперимента был выбран режим введения соединения B6NO внутривенно, ежедневно, в течение 14 дней в дозе 10 мг/кг.

**Результаты.** Было показано, что многократное внутривенное введение соединения B6NO приводит к ингибированию роста опухолевого узла. Торможение роста опухоли увеличивалось в течение наблюдения и достигло биологически значимого уровня к 17-м суткам после трансплантации опухоли. Также результаты показали, что при совместном применении цисплатина и гибридного соединения B6NO продолжительность жизни экспериментальных животных увеличивается. Таким образом, было показано, что на модели перевиваемой меланомы B16 сочетанное применение препарата цисплатин и нового гибридного соединения приводило к повышению эффективности противоопухолевого препарата относительно его применения в монорежиме. Установлено, что соединение B6NO при многократном введении индивидуально проявляет противоопухолевый эффект. Определено, что введение гибридного соединения B6NO снижало активность маркеров повреждения кардиомиоцитов АЛТ и АСТ в крови лабораторных животных на фоне применения доксорубина, а их совместное применение восстанавливало коэффициент де Ритиса до уровня нормы.

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о том, что гибридное соединение B6NO обладает антиоксидантными и противоопухолевыми свойствами как в монорежиме, так и оказывает значительный кардиопротекторный эффект при совместном использовании с известными противоопухолевыми препаратами.

*Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ (№ 124020500019-2).*

## Эффективность терапии лекарственно-устойчивых вариантов лейкоза P388 мышей нековалентным конъюгатом фуллерена с нитроксильным производным даунорубина

Т.А. Раевская, О.А. Краевая, С.А. Гончарова,  
А.Б. Корнев, П.А. Трошин

ФГБУН «ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН», Черноголовка  
e-mail: tara@icp.ac.ru

**Введение.** Новой стратегией в терапии лейкозов является включение антиоксидантов в комбинации с противоопухолевыми лекарственными средствами с целью повышения эффективности лечения. Водорастворимый нековалентный конъюгат фуллерена с рубоксолом, нитроксильным производным даунорубина, созданным в ИХФ РАН в 1970-х годах, показал значительную противоопухолевую активность на модели лейкоза P388 (Mendelev Comm., 2024, 34, 1–4). Применение обладающих антиоксидантными свойствами конъюгатов фуллерена с противоопухолевыми средствами также является перспективным подходом к лечению лекарственно-устойчивых опухолей.

**Цель исследования** — оценить *in vivo* эффективность терапии соединением KB-747 (нековалентный конъюгат рубоксина с фуллереном) мышей с тремя лекарственно-устойчивыми вариантами лимфолейкоза P388, устойчивыми к рубомицину (P388/руб), циклофосфану (P388/ЦФ) и цисплатину (P388/cPt).

**Материалы и методы.** ХТ проводили на мышах-гибридах BDF<sub>1</sub> с лекарственно-устойчивыми опухолями, 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 увеличения средней продолжительности жизни (УПЖ) леченых мышей по сравнению с контролем. Использовали терапевтические дозы 15 мг/кг для рубоксина и 60 мг/кг для KB-747, режим введения 1, 4, 7, 10-е сутки после перевивки.

**Результаты.** На исходном штамме P388 применение KB-747 повышало УПЖ до 343 % (37 % излеченных животных), при использовании рубоксина УПЖ составило 227 % (излеченных не было). При введении мышам с лейкозом P388/ЦФ рубоксина (УПЖ = 224 %) и KB-747 (УПЖ = 165 %) наблюдалось по 25 % излеченных животных в группах. На штамме P388/руб при введении как KB-747, так и рубоксина продолжительность жизни была на уровне контроля. На штамме P388/cPt введение KB-747 давало УПЖ = 260 % (1 излеченное животное), а введение рубоксина — УПЖ = 143 %.



**Заключение.** Рубоксил и рубомицин (даунорубин) относятся к классу антрациклиновых антибиотиков, вызывающих множественную лекарственную устойчивость. Отсутствие эффективности на штамме P388/руб демонстрирует наличие у этого штамма множественной лекарственной устойчивости к ХТ как рубоксилом, так и КВ-747. Лекарственная устойчивость двух других штаммов имеет другой механизм развития и обусловлена повышенным содержанием глутатиона в клетках. Полученные результаты подтверждают возможность эффективного лечения лекарственно-устойчивых вариантов лейкоза с помощью КВ-747, принимая во внимание механизм выработанной устойчивости.

*Работа выполнена в рамках государственного задания № АААА-А19-119071890015-6.*

### Суицидальная виротерапия как перспективный подход к лечению глиом

А.О. Романишин<sup>1</sup>, А.А. Васильев<sup>1</sup>, Э.М. Хасаншин<sup>2</sup>,  
А.А. Евтехов<sup>2</sup>, Е.А. Пузынин<sup>2</sup>, В.В. Малащенко<sup>1</sup>,  
В.В. Какоткин<sup>1</sup>, М.А. Агапов<sup>1</sup>, Е.В. Семина<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет  
им. Иммануила Канта», Калининград;

<sup>2</sup>ГБУЗ КО «Областная клиническая больница», Калининград;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва  
e-mail: romanishin.alexander97@yandex.ru

**Введение.** Глиомы являются одними из самых распространенных и гетерогенных новообразований центральной нервной системы. Для лечения глиом существует единый «золотой стандарт» терапии, включающий хирургическую резекцию опухоли, ХТ (темозоломид (ТМЗ), ломустин, цисплатин) и радиотерапию. Несмотря на «золотой стандарт» и использование генетического анализа, медиана выживаемости пациентов составляет 36 мес для пациентов с глиомой III степени злокачественности и 15 мес — с IV. В связи с чем, в настоящее время разрабатывается множество подходов к терапии глиом с целью увеличить выживаемость пациента и уменьшить силу побочных эффектов. Одним из таких способов являются онколитические вирусы, которые обладают широким спектром механизмов действия. Наиболее востребованным из них является система тимидинкиназы (*H. Simplex virus*) — ганцикловир (ТК-ГЦВ). Система ТК-ГЦВ основана на возможности индукции апоптоза за счет фосфорилирования ГЦВ и конкурентного замещения им дГТФ при репликации, что приводит к множественным ошибкам в геноме и апоптозу клеток.

**Цель исследования.** Нами созданы онколитические вирусы (лентивирусы), содержащие ген ТК, и оценена эффективность системы ТК-ГЦВ в отношении клеток глиом человека (линейных глиомы U87 и U251, а также первичных культур глиом, полученных из операционного материала).

**Результаты.** Эффективность трансдукции клеток глиом составила более 80 %. Использование онколитических вирусов на линейных и первичных клетках глиом в сочетании с ГЦВ значительно (на 40 %) снижает пролиферацию клеток (экспрессию ядерного маркера пролиферации Ki-67), а также индуцирует в опухолевых клетках апоптоз (увеличивает экспрессию BAX на 25 %). Анализ цитотоксичности ГЦВ (МТТ-тест) также показал достоверное увеличение гибели клеток опухоли через 5 сут после введения максимально допустимой концентрации ГЦВ 2 мкМ. Кроме того, использование ГЦВ существенно снизило миграторный потенциал клеток глиом, экспрессирующих ТК, по сравнению с контрольными клетками (клеток линии U87 на 20 %, а U251 на 100 %).

**Заключение.** Полученные результаты показали эффективность онколитической терапии на клеточных моделях *in vitro* и заложили основу дальнейшей трансляции результатов на мышинные модели *in vivo*.

### Определение последовательностей эпитопов для моноклональных антител, направленных против натрийзависимого фосфатного транспортера NaPi2b

А.А. Рябин, А.В. Килунов, А.М. Ильина,  
Р.Г. Киямова, В.С. Скрипова

Научно-исследовательская лаборатория «Биомаркер»,  
Институт фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ  
ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»,  
Казань

e-mail: alexryabin001@gmail.com

**Введение.** Натрийзависимый фосфатный транспортер NaPi2b является мембранным гликопротеином, повышенное содержание которого выявлено в ряде опухолей, включая карциному яичника. Мембранная локализация делает транспортер NaPi2b перспективной мишенью для разработки таргетных противоопухолевых препаратов, в том числе на основе моноклональных антител. Ряд конъюгатов антител с лекарственными препаратами против транспортера NaPi2b проходят доклинические и клинические испытания за рубежом, но в России такие препараты пока не разработаны. С помощью гибридной технологии нами была получена панель продуцентов мышинных моноклональных антител, которые распознают транспортер NaPi2b.

**Цель исследования** — определение участков транспортера NaPi2b, содержащих эпитопы для моноклональных антител, продуцируемых гибридами N1, N2 и N3.

**Материалы и методы.** Клетки *E. coli* штамма BL21 (DE3) методом теплового шока трансформировали рекомбинантными векторами, кодирующими слитые с GST участки транспортера NaPi2b, содержащие иммуногенные области. Синтез рекомбинантных белков

в клетках *E. coli* индуцировали с помощью ИПТГ с последующим получением бактериальных лизатов. Наличие рекомбинантных белков в лизатах подтверждали методом вестерн-блот-анализа антителами против GST. Специфичность антител, продуцируемых гибридами N1, N2 и N3, к рекомбинантным участкам транспортера NaPi2b в бактериальных лизатах определяли методом вестерн-блот-анализа с использованием культуральных сред исследуемых гибридом.

**Результаты.** Было показано, что эпитоп для антител гибридомы N1 расположен на участке с 1 по 16 а.о. транспортера NaPi2b, для антител гибридомы N2 — с 46 по 55 а.о. Антитела гибридомы N3 распознают два разных участка — с 1 по 16 а.о. и с 46 по 55 а.о. транспортера NaPi2b. Это свидетельствует о том, что, вероятно, гибридома N3 является смесью как минимум двух клонов, продуцирующих антитела против разных участков транспортера NaPi2b, и требует субклонирования для получения продуцентов-моноклонов.

**Заключение.** Определены участки транспортера NaPi2b, содержащие эпитопы для антител, продуцируемых гибридами N1, N2 и N3. Всесторонняя характеристика антител, включая определение аминокислотных последовательностей эпитопов, является необходимой для создания в будущем на их основе противоопухолевых препаратов.

*Работа выполнена при поддержке  
Программы стратегического академического  
лидерства Казанского (Приволжского) федерального  
университета (ПРИОРИТЕТ-2030).*

## Оценка противоопухолевой активности 5-замещенных аминокислотных производных рибавирина *in vitro*

Е.Д. Савина<sup>1</sup>, Е.С. Олейник<sup>1</sup>, В.П. Максимова<sup>2</sup>,  
Л.Е. Гребенкина<sup>1</sup>, Е.А. Лесовая<sup>2-4</sup>, М.Г. Якубовская<sup>2,3</sup>,  
А.В. Матвеев<sup>1</sup>, Е.М. Жидкова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «МИРЭА — Российский технологический университет», Москва;

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

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

<sup>4</sup>ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва  
e-mail: katy.dm.savina@gmail.com

**Введение.** Противовирусный препарат рибавирин является перспективной мишенью для перепрофилирования и использования в терапии ЗНО. Однако эффективные в отношении клеток опухолей дозы рибавирина достаточно высоки. Одним из подходов к расширению терапевтического интервала является химическая модификация молекулы. Введение аминокислотной группы в структуру повышает растворимость за счет формирования

дополнительной водородной связи. Поэтому нами был проведен синтез аминокислотных производных 1,2,4-триазол-3-карбоксамидов (ТКА), агликона рибавирина: 5-аминометил-ТКА, 5-аминоэтил-ТКА, 5-аминопропил-ТКА, 5-аминопентил-ТКА, 5-амино-ТКА.

**Цель исследования** — оценка цитотоксичности 5-аминометилсодержащих производных рибавирина и их влияния на клеточный цикл клеток опухолей кроветворной системы *in vitro*.

**Материалы и методы.** Влияние соединений на жизнеспособность клеток опухолей кроветворной системы линий ХМЛ К562 и острого лимфобластного лейкоза СЕМ оценивали с помощью МТТ-теста. Распределение клеток по фазам клеточного цикла под действием исследуемых соединений методом проточной цитофлуориметрии с окрашиванием пропидий йодидом.

**Результаты.** Для новосинтезированных соединений в отношении клеток опухолей кроветворной системы рассчитанные концентрации IC<sub>50</sub> для производных рибавирина составили от 6 до 19 мМ для клеток К562 и от 19 до 50 мМ для клеток СЕМ. Исследуемые соединения в концентрациях 5–50 мкМ при инкубации 72 ч ингибируют пролиферацию и вызывают в клетках К562 арест в G1-фазе клеточного цикла. Более того 5-аминометил-ТКА индуцирует апоптоз в клетках СЕМ.

**Заключение.** Острые формы лейкозов являются более агрессивными и характеризуются худшим прогнозом. В связи с этим, обнаруженная активность 5-аминометил-1,2,4-триазол-3-карбоксамидов в отношении линии клеток острого лимфобластного лейкоза позволяет судить о перспективности химической модификации агликона рибавирина по 5-му положению триазольного кольца с целью получения более активных соединений для применения в противоопухолевой терапии.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ  
(грант № 23-25-00382).*

## Механизм противоопухолевого действия дорсоморфина

А.В. Сагайдак, Т.А. Григорьева, Д.С. Новикова

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный  
технологический институт (технический университет)»,  
НИЛ «Молекулярная фармакология», НИЛ «Клеточная  
биотехнология», Санкт-Петербург  
e-mail: aleksandrasagaidak@yandex.ru

**Введение.** Активность ABC-транспортеров, в первую очередь Р-гликопротеина, в здоровых клетках обеспечивает выброс нежелательных соединений, однако при терапевтическом воздействии этот же механизм может стать причиной отсутствия реакции на лечение, в частности приводить к развитию химиорезистентности опухолевых клеток.

На данный момент основным решением для преодоления ABC-транспортер-опосредованной устойчивости опухолей считается совместное использование химиотерапевтических препаратов с низкомолекулярными соединениями, способными ингибировать транспортеры. В связи с этим, ведется активный поиск эффективных ингибиторов ABC-транспортеров.

В ходе поиска новых ингибиторов Р-гликопротеина группой исследователей лаборатории «Молекулярная фармакология» СПбГТИ (ТУ) было обнаружено, что дорсоморфин — широко используемый ингибитор АМФ-активируемой протеинкиназы (АМФК) — демонстрирует свойства, характерные для потенциальных ингибиторов Р-гликопротеина.

**Цель исследования** — оценка применимости дорсоморфина для подавления активности Р-гликопротеина и преодоления химиорезистентности опухолевых клеток. В качестве клеточной модели рассматривали клетки аденокарциномы толстой кишки человека, устойчивые к цитостатику таксолу.

**Материалы и методы.** Оценку влияния дорсоморфина на транспортную активность Р-гликопротеина осуществляли по накоплению клетками красителя hoechst 33342, а также по влиянию дорсоморфина на выживаемость клеток в присутствии таксола, который является субстратом Р-гликопротеина, при помощи МТТ-теста. В обоих случаях в качестве контроля выступали клетки, не обработанные дорсоморфином. При этом эффект от применения дорсоморфина сравнивали с эффектом от модельного ингибитора Р-гликопротеина — тариквидара.

**Результаты.** Применение дорсоморфина обеспечило увеличение накопления субстратов Р-гликопротеина в клетках, о чем свидетельствует существенное изменение интенсивности их окраски hoechst 33342. Накопление таксола в клетках в присутствии дорсоморфина привело к гибели клеток, которые при отсутствии ингибиторов Р-гликопротеина были невосприимчивы к цитостатику. При этом полученные результаты сопоставимы с эффектом от использования тариквидара.

**Заключение.** Полученные данные позволяют утверждать, что дорсоморфин оказывает ингибирующее действие на активность Р-гликопротеина и может рассматриваться в качестве агента для преодоления транспортерсвязанной химиорезистентности опухолевых клеток.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 24-73-10221).*

## Фосфорилзамещенные стероидные пиридазины как ингибиторы рецептора эстрогена альфа: дизайн, синтез и анализ воздействий на клетки рака молочной железы

Д.И. Сальникова<sup>1,2</sup>, А.В. Комков<sup>2</sup>, Я.В. Диченко<sup>3</sup>,  
Ф.Б. Богданов<sup>1,4</sup>, А.Б. Саченко<sup>3</sup>, О.С. Федянина<sup>2</sup>,  
Д.В. Сорокин<sup>1</sup>, И.В. Заварзин<sup>2</sup>, Ю.А. Волкова<sup>2</sup>,  
А.М. Щербаков<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>Отдел экспериментальной биологии опухолей  
НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии  
им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБУ «Институт органической химии  
им. Н.Д. Зелинского РАН», Москва;

<sup>3</sup>ГНУ Институт биоорганической химии Национальной  
академии наук Беларуси, Минск;

<sup>4</sup>ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва;

<sup>5</sup>лаборатория химической трансформации антибиотиков  
ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков  
им. Г.Ф. Гаузе», Москва  
e-mail: d.salnikova@ronc.ru

**Введение.** Рецептор эстрогена альфа (ER $\alpha$ ) — мишень терапии гормонозависимого РМЖ. Около 70 % всех случаев РМЖ составляют люминальные подтипы. Гетероциклические производные стероидов — перспективный класс соединений для создания ингибиторов ER $\alpha$ . Введение гетероциклических фрагментов, в том числе пиридазиновых, в структуры нативных гормонов — один из подходов к таргетированию соединений на рецепторы стероидных гормонов.

**Цель исследования** — изучение антипролиферативного эффекта и молекулярных мишеней новых фосфорилзамещенных стероидных пиридазинов (Pho-STPYRs) на *in vitro* моделях гормонозависимого и гормоннезависимого РМЖ и разработка синергетической комбинации лидерной молекулы с ингибитором киназы АКТ (АКТ-IV).

**Материалы и методы.** Клеточные культуры (ATCC): гормонозависимый (MCF-7) и гормоннезависимый (MDA-MB-231) РМЖ, моноцитоподобная линия THP-1. Структура соединений подтверждена методами ЯМР и HRMS. Синтез, молекулярный докинг, моделирование молекулярной динамики, связывание с цитохромами, МТТ-тест, иммуноблоттинг, люциферазный тест, статистическая обработка.

**Результаты.** Антипролиферативная активность аннелированных с D-кольцом пиридазинов андростанового ряда 33 (3-оксо-1'-(дифенилфосфиноксид)-4-андростено[16,17-d]пиридазин) и 34(3-оксо-1'-(N, N'-дифенилфосфориламид)-4-андростено [16,17-d] пиридазин) с  $\Delta^4$ -3-кетомотивом была наибольшей на линии MCF-7 (IC<sub>50</sub> = 6,5 ± 0,5 и 5,9 ± 0,6 мкМ) и была сопоставима с активностью цисплатина (IC<sub>50</sub> = 6,5 ± 0,6 мкМ) и 4-гидрокситамоксифена (IC<sub>50</sub> = 5,2 ± 0,8 мкМ). На MDA-MB-231 активность 33 и 34 составила 18,1 ± 1,5

и  $22,0 \pm 2,0$  мкМ соответственно, что позволяет считать эти производные более активными в отношении MCF-7. 33 и 34 были выбраны лидерами. 34 показало селективность на MCF-7 в сравнении с TNP-1 ( $IC_{50} > 50$  мкМ), индекс селективности (SI) составил  $> 8,5$  и превысил SI для доксорубина (0,2). На MCF-7 была получена синергетическая комбинация 34 (2,4 мкМ) с 0,25 мкМ киназного ингибитора АКТ-IV; комбинационный индекс был  $< 0,7$ . 33 и 34 блокируют экспрессию ER $\alpha$  и модулируют пути циклина D1 и CDK4. Молекулярный докинг показал, что сродство связывания 33 ( $-9,1$  ккал/моль) почти равно сродству эстрадиола ( $-9,9$  ккал/моль), а сродство связывания 34 ( $-14,5$  ккал/моль) выше, чем у природного лиганда рецептора. 33 и 34 в анализе селективности не оказывали влияния на цитохромы P450: CYP7A1, CYP7B1, CYP17A1, CYP19A1, CYP21A2.

**Заключение.** Соединение 34 показало селективность, антиэстрогенный эффект и высокую антипролиферативную активность в комбинации с ингибитором киназы АКТ. Pho-STPYRs — перспективная основа для создания новых классов гормональных ингибиторов.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 22-13-00161).*

## Дендритные клетки приобретают способность реплицировать онколитические вирусы в ходе дифференцировки из моноцитов

В.А. Саркисова<sup>1-3</sup>, П.М. Чумаков<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины, Москва;

<sup>2</sup>кафедра вирусологии, биологический факультет ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва;

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН», Москва  
e-mail: viktorii.sarkisova@yandex.ru

**Введение.** В настоящее время активно исследуется применение онколитических вирусов для системной терапии злокачественных солидных опухолей. Существует ряд факторов, существенно снижающих эффективность виротерапии при внутривенном введении онколитических вирусов. Так, механизмы врожденного и адаптивного противовирусного иммунитета способствуют быстрому выведению вируса из кровотока, значительно уменьшая количество инфекционных частиц, которые могут достичь очага опухоли. Одна из стратегий преодоления данной проблемы — использование клеток-носителей, способных изолировать вирус от воздействия нейтрализующих антител и факторов комплемента. Ранее нами было показано, что полученные из моноцитов дендритные клетки человека (мо-ДК) способны к интернализации и репликации

ряда различных онколитических вирусов, что делает этот тип клеток одним из перспективных кандидатов на роль носителей. Впервые произведена оценка влияния длительности дифференцировки и статуса созревания мо-ДК на эффективность репликации онколитических вирусов.

**Цель исследования** — провести сравнительный анализ эффективности репликации панели онколитических вирусов в моноцитах и мо-ДК на разных стадиях дифференцировки

**Материалы и методы.** Моноциты выделяли из цельной крови здоровых доноров. Мо-ДК получали путем культивирования моноцитов с гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором и IL-4 в течение 3 или 6 дней. Созревание мо-ДК индуцировали бактериальным липополисахаридом. Моноциты и мо-ДК были инфицированы ортореовирусом млекопитающих 1, 2, 3-го серотипов, вирусом Сендай (Москва), вирусом болезни Ньюкасла (Н), эховирусом 1, 7, 12-го серотипов, вирусом Коксаки A21-2, полиовирусом 1-го типа (Сэбин) с последующей количественной оценкой инфекционного титра методом серийных разведений на чувствительной культуре (линия H1299).

**Результаты.** В отличие от моноцитов, мо-ДК уже на 3-й день дифференцировки поддерживали репликацию всех проанализированных онколитических вирусов. Прирост инфекционного титра после заражения мо-ДК на 6-й день был сопоставим с 3-дневными мо-ДК. Индукция созревания мо-ДК оказывала существенное отрицательное влияние на эффективность репликации ряда онколитических вирусов из групп парамиксовирусов и энтеровирусов.

**Заключение.** Пермиссивность ко всем исследованным онколитическим вирусам приобретается в ходе дифференцировки моноцитов в мо-ДК. При этом длительность дифференцировки не оказывает влияния на эффективность репликации, что позволяет сократить временные затраты на получение пула клеток-носителей. Наконец, следует избегать активации и созревания мо-ДК, так как это лимитирует репликацию ряда онколитических вирусов, а следовательно, и эффективность доставки.



## Влияние двухвалентных катионов на взаимодействие поли(АДФ-рибоза)-полимеразы-2 с нуклеосомами

А.А. Саулина<sup>1,2</sup>, Н.В. Малюченко<sup>2</sup>, А.В. Феофанов<sup>2</sup>,  
В.М. Студитский<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт биологии гена РАН», Москва;

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

<sup>3</sup>Центр исследований рака Фокс Чейз, Филадельфия, США  
e-mail: lys-alex-bio-msu@yandex.ru

**Введение.** Повреждающие факторы различной природы способствуют появлению одно- и двухцепочечных разрывов ДНК. Системы репарации ДНК помогают спасти клетку от злокачественного перерождения. В регуляции работы системы репарации участвует ядерный фермент PARP-2 (поли(АДФ-рибоза)-полимераза-2), осуществляющий поли(АДФ)-рибозилирование: PARP-2 синтезирует полимер из АДФ-рибозы, рекрутирующий факторы репарации к месту повреждения. В настоящее время в онкотерапии уже используют ингибиторы PARP-2, чтобы снизить эффективность репарации в опухолевых клетках. Новые знания о механизмах и особенностях работы PARP-2 могут позволить регулировать его эффекты внутри клетки и целого организма. Удобной системой для исследования взаимодействия PARP-2 с хроматином в контексте нуклеосом являются мононуклеосомы.

**Цель исследования** — исследование эффектов PARP-2 на структуру нуклеосом в зависимости от наличия ионов  $Zn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  и  $Mg^{2+}$ .

**Материалы и методы.** Исследование проводилось методом *sp*FRET-микроскопии с использованием рекомбинантного PARP-2 и нуклеосом с различным положением флуоресцентных меток.

**Результаты.** Было обнаружено, что в присутствии 0,3 мМ и более ионов  $Zn^{2+}$  PARP-2 приобретает способность изменять структуру нуклеосом. В присутствии ионов  $Ca^{2+}$  и  $Mg^{2+}$  и в отсутствие двухвалентных катионов PARP-2 не меняет структуру нуклеосом, хоть и связывается с ними. Структурные изменения, оказываемые PARP-2 в присутствии ионов  $Zn^{2+}$ , затрагивают не только области входа ДНК в нуклеосому и выхода ДНК из нуклеосомы, но и центральную область нуклеосомы.

**Заключение.** Впервые показано, что эффект PARP-2 на структуру нуклеосом является  $Zn^{2+}$ -зависимым и может регулироваться концентрацией ионов  $Zn^{2+}$ . При взаимодействии с PARP-2 в присутствии ионов  $Zn^{2+}$  происходит общее изменение укладки нуклеосомной ДНК на октамере гистонов, распространяющееся на всю коровую область нуклеосомы. Полученные результаты вносят вклад в понимание механизмов взаимодействия PARP-2 с хроматином.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 19-74-30003).

## Перспективы в лечении немелкоклеточного рака легкого с мутацией KRASG12C

А.В. Селезнева

Академия постдипломного образования  
ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России», Москва  
e-mail: alinaselezneva15@yandex.ru

**Введение.** KRAS — ГТФ-связывающий белок, участвующий в процессе передачи сигнала от активной рецепторной тирозинкиназы внутрь клетки. KRAS — одна из новых мишеней для лечения НМРЛ. Наибольший интерес представляет мутация KRASG12C, так как пациенты с данной мутацией имеют более высокий риск смерти, чем пациенты с другими молекулярными нарушениями.

**Цель исследования** — выявить особенность молекулярного нарушения и найти возможные пути решения лечения пациентов с данной мутацией.

**Материалы и методы.** Рассмотрены пути решения лечения пациентов с НМРЛ с наличием мутации KRASG12C. Утверждение препарата соторасиб было на основе результатов клинического исследования CodeBreaK-100. В клиническом исследовании 126 пациентов получали пероральный ингибитор тирозинкиназы соторасиб в дозировке 960 мг 1 раз в день. Первичной конечной точкой был объективный ответ — полный или частичный ответ на проводимую терапию.

**Результаты.** Изменения KRAS встречаются при аденокарциноме легкого, колоректальной аденокарциноме и карциноме поджелудочной железы. Мутированный ген KRAS трансформирует клетку в злокачественную.

Форма белка RAS лишена мест для связывания с ингибиторами, но особенность заключается в наличии АТФ-связывающего кармана P2, который всегда связан с ГТФ.

В P2-белок способен переключаться между двумя формами — активной и неактивной, что свидетельствует о возможности конкурентного ингибирования KRASG12C.

Пациенты с НМРЛ, имеющие мутацию KRAS G12C, которые ранее получали ХТ на основе препаратов платины и ингибиторами запрограммированной смерти 1 (PD-1) или его лиганда (PD-L1) и имеющие прогрессирование заболевания на фоне 1-й линии терапии, получали соторасиб в дозе 960 мг.

Объективный ответ считался первичной конечной точкой. Вторичной контрольной точкой были продолжительность на ответ, выживаемость без прогрессирования и общая выживаемость. Объективный ответ

наблюдался у 46 (37,1 %) пациентов. У 4 (3,2 %) пациентов был зарегистрирован полный ответ, у 42 (33,9 %) — частичный. Контроль заболевания достигнут у 100 (80,6 %) пациентов. Медиана выживаемости без прогрессирования — 6,8 мес, общей выживаемости — 12,5 мес. Нежелательные явления, связанные с лечением, возникли у 88 (69,8 %) из 126 пациентов. Токсичность G3 — у 25 (19,8 %) пациентов и G4 — у 1 (0,8 %).

Самыми частыми нежелательными явлениями были диарея, тошнота и повышение уровня печеночных трансаминаз.

**Заключение.** Соторасиб является первым пероральным ингибитором KRASG12C, который продемонстрировал свою эффективность и управляемый профиль токсичности. В соответствии с данными клинического исследования CodeBreaK-100 соторасиб был ускоренно одобрен FDA для лечения НМРЛ с наличием мутации KRASG12C у пациентов, ранее получавших лечение.

### Этапы конструирования структуры молекулы антрациклинового антибиотика, сочетающего сразу несколько модификаций, для уменьшения кардиотоксичности

А.В. Семаков, С.А. Пухов, А.А. Глоба

Институт физиологически активных веществ  
ФГБУН «ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН», Черноголовка  
e-mail: L\_vok@list.ru

**Введение.** Введение N-алкильного заместителя в молекулу антрациклинового антибиотика обычно ведет к получению соединений со сравнимой с исходными антрациклинами цитотоксичностью. Для некоторых N-алкил-антрациклинов было показано снижение кардиотоксичности и острой токсичности. Переход от простых гидрофобных алкильных заместителей к лактонам позволяет добавить антрациклину еще один механизм снижения кардиотоксичности.

**Цель исследования** — синтезировать производные соединения даунорубицина, объединяющих в своей структуре несколько известных подходов к химической модификации, каждая из которых потенциально ведет к снижению кардиотоксичности.

**Материалы и методы.** Сесквитерпеновые лактоны были выделены из растительных источников или получены полусинтетически. N-алкилирование даунорубицина сесквитерпеновыми лактонами проводили напрямую по реакции аза-Михаэля. 5-иминоаналоги даунорубицина и его конъюгатов были получены взаимодействием с метанольным раствором аммиака. Цитотоксичность соединений *in vitro* оценивали с помощью МТТ-теста. Кардиотоксическое действие конъюгатов с лактонами оценивали *in vivo* по гистологическим изменениям в миокарде.

**Результаты.** Сесквитерпеновые лактоны способны напрямую алкилировать антрациклины по аминсахару. Была синтезирована серия конъюгатов лактонов с антрациклинами. Для многих из них характерна цитотоксичность выше, чем у даунорубицина сразу на нескольких клеточных линиях. Алкильные конъюгаты даунорубицина с эпокси-изоалантолактоном и дегидрокостус-лактоном вызывают менее выраженные гистологические изменения в паренхиме и строме миокарда. Для предотвращения образования активных форм кислорода далее было получено несколько 5-иминоконъюгатов с лактонами. Конъюгаты с алантолактоном и изоалантолактоном *in vitro* иногда оказывались более активными, чем чистый 5-иминодаунорубицин.

**Заключение.** Одновременная модификация даунорубицина по хинону и алкилирование сесквитерпеновыми лактонами дает соединения, сохраняющие цитотоксическую активность и имеющие предпосылки к сниженной кардиотоксичности.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИФВ РАН 2024 г. (тема № FFSN-2024-0021).

### Предиктивная значимость оценки PD-L1 экспрессии (клон PDCD1LG1) при раке молочной железы

М.А. Сеньчукова<sup>1,2</sup>, Н.В. Сайдлер<sup>2</sup>, Е.Ю. Зубарева<sup>1,2</sup>

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

**Цель исследования** — оценить предиктивную значимость нового маркера PD-L1 экспрессии (клон PDCD1LG1) при РМЖ.

**Материалы и методы.** В пилотное проспективное исследование включены 56 пациенток с химиорезистентным РМЖ (люминальный А подтип) и 44 пациентки с РМЖ, условно чувствительным к ХТ (с индексом Ki-67  $\geq 40$  %). Гистопрепараты окрашивали иммуногистохимически антителами к PDCD1LG1. Экспрессию PDCD1LG1 в цитоплазме опухолевых клеток оценивали как выраженную (все опухолевые клетки экспрессируют маркер или экспрессия маркера отсутствует только по инвазивному краю) и слабо выраженную (экспрессия маркера отсутствует как по краю, так и в центральной части опухоли). ОП PDCD1LG1 позитивных иммунных клеток (PDCD1LG1+ ИК) оценивали как низкую (<3,0), среднюю (от 3,0 до 4,9) и высокую (>5,0).

**Результаты.** Мы выделили 2 типа РМЖ: с любой выраженностью цитоплазматической экспрессии

PDCD1LG1 и низкой ОП PDCD1LG1+ ИК (I тип) и со слабовыраженной цитоплазматической экспрессией PDCD1LG1 и средней и высокой ОП PDCD1LG1+ ИК (II тип). Согласно данным однофакторного анализа, с химиорезистентным РМЖ были связаны стадия N2 ( $p = 0,0166$ ), G1 и G2 ( $p < 0,00001$  и  $p = 0,0001$  соответственно), позитивный статус рецепторов к прогестерону ( $p = 0,0001$ ), наличие периневральной инвазии ( $p = 0,044$ ), слабо выраженная цитоплазматическая экспрессия PDCD1LG1 в опухолевых клетках ( $p = 0,0014$ ), низкая ОП PDCD1LG1+ ИК ( $p = 0,0005$ ) и опухоли I типа ( $p < 0,00001$ ). Однако в многофакторном анализе независимыми предикторами химиорезистентного РМЖ были только G1 ( $p = 0,0002$ ) и опухоли I типа ( $p < 0,00001$ ). В группе пациенток с опухолями I типа 50 (78,1 %) из 64 имели химиорезистентный РМЖ, тогда как в группе пациенток с опухолями I типа — только 6 (16,7 %) из 36.

**Заключение.** Комбинированная оценка экспрессии маркера в опухолевых клетках и ОП PDCD1LG1+ ИК позволяет прогнозировать чувствительность РМЖ к ХТ.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 23-25-00183).*

### Гомодимерное депо-пролекарство абиратерона для терапии рака предстательной железы: дизайн, синтез и первичное биотестирование

А.В. Сидорюк<sup>1</sup>, Е.В. Нуриева<sup>1</sup>, Н.А. Зефилов<sup>1</sup>,  
О.Ю. Кравцова<sup>2</sup>, Е.Р. Милаева<sup>1</sup>, О.Н. Зефирова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва;

<sup>2</sup>ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва  
e-mail: anna.sidoryuk@gmail.com

**Введение.** Абиратерон (Abi) — стероидный ингибитор синтеза андрогенов — используется в терапии РПЖ в виде ацетатного пролекарства. Биодоступность последнего невысока и варьируется в зависимости от жирности пищи, что требует применения высоких доз препарата и сложного для пациентов режима его приема. Это делает актуальным создание аналогов Abi с улучшенной биодоступностью, например депо-форм для парентерального введения. Перспективность их создания продемонстрирована (US Patent 10792292B2) на примере конъюгатов Abi с жирными кислотами, эффективных в низких дозах на моделях *in vivo* (в том числе на приматах).

**Цель исследования** — предложить новые структуры липофильных пролекарств Abi как депо-форм для парентерального введения, реализовать их синтез и провести оценку времени их полураспада в плазме крови крыс.

**Материалы и методы.** Вещества синтезировали из Abi (Sigma-Aldrich) по разработанным методикам. Для тестирования использовали плазму крови белых беспородных крыс (самцы, 10–12 нед, 180–200 г) питомника лабораторных животных филиал «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА» (Московская обл.). Количественное определение продуктов гидролиза в плазме проводили с помощью ВЭЖХ системы Ultimate 3000 (Thermo Scientific, США), совмещенной с масс-спектрометрическим детектором (TSQ Altis, Thermo Scientific, США) в режиме мониторинга выбранных реакций (SRM). Для регистрации и обработки данных использовали программное обеспечение Xcalibur v. 4.2.28.14 (Thermo Scientific, США).

**Результаты.** Предложены 3 оригинальных структуры гомодимерных липофильных пролекарств Abi и реализован синтез одного из них — бис[(3b)-17-пиридин-3-иландроста-5,16-диен-3-ил] бутандиоата (bis-Abi) — с приемлемым выходом. Результаты тестирования bis-Abi подтверждают, что в плазме крови крыс оно медленно ( $t_{1/2} = 15,9$ ) и непрерывно гидролизует до активной молекулы — абиратерона.

**Заключение.** Соединение bis-Abi — перспективный кандидат для тестирования на моделях *in vivo* в качестве новой вводимой парентерально депо-формы абиратерона.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 22-63-00016).*

### Оригинальное производное димекарбина повышает эффективность противоопухолевой терапии

О.В. Солдатов, М.В. Филимонова, В.И. Суринова,  
А.А. Шитова, В.А. Рыбачук, К.А. Николаев,  
А.О. Косаченко, И.К. Волкова, А.С. Филимонов

МРНЦ им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии»  
Минздрава России, Обнинск  
e-mail: 89208861291@mail.ru

**Введение.** Производное индол-3-карбоновой кислоты (ИЗК), димекарбин, является безопасным гипотензивным лекарственным средством, способным уменьшать содержание серотонина в ЦНС и снижать артериальное давление. В доступных источниках литературы производные димекарбина характеризуются противовирусными и противовоспалительными свойствами. В радиационной лаборатории МРНЦ им. А.Ф. Цыба в ходе направленного синтеза был разработан ряд новых производных димекарбина, обладающих выраженными противоопухолевыми свойствами. Отмечен высокий противоопухолевый потенциал соединения под условным шифром Н1, содержащего в своей структуре алкилирующие этилхлоридные компоненты.

**Цель исследования** — изучение перспективности противоопухолевой комбинации соединения НІ с известными средствами противоопухолевой терапии (циклофосфамидом, бевацизумабом,  $\beta$ -излучением).

**Материалы и методы.** Три независимых исследования проведены на самках мышей  $F_1$  (СВАхС<sub>57</sub>Вl/6j) в количестве  $n = 190$ . Опухолевая модель — солидная карцинома Эрлиха — трансплантировалась мышам подкожно в область латеральной поверхности правого бедра в количестве  $2,0 \times 10^6$  клеток/мышь. Циклофосфамид вводили животным в дозе 35 мг/кг внутривенно через день с 8 по 20-е сутки роста опухоли. Бевацизумаб вводили в дозе 12 мг/кг внутривенно на 7, 10 и 15-е сутки. Опухолевый узел локально подвергали облучению электронами в дозе 10 Гр. Во всех случаях соединение НІ вводили животным внутривенно в дозе 28 мг/кг с 7-х по 19-е сутки. Влияние на рост опухоли оценивали морфометрически, путем вычисления объемов опухолей и индекса торможения роста опухоли (ТРО).

**Результаты.** Во всех исследованиях НІ проявило высокую статистически значимую противоопухолевую активность. В сочетании с циклофосфамидом индекс ТРО достигал наибольшего значения — 50 %. В исследовании с бевацизумабом комбинация этих агентов сопровождалась 35 % торможением роста солидной карциномы Эрлиха. Комбинация исследуемого соединения с облучением вызывало торможение неоплазии в среднем до 40 %. При самостоятельном применении НІ торможение опухолевого роста находилось в пределах 20–30 %. Во всех случаях эффективность комбинации подтверждалась при терминальной морфометрии опухолевых узлов.

**Заключение.** В экспериментальных исследованиях нами была показана перспективность комбинированного применения нового производного димекарбина с известными средствами противоопухолевой терапии. Использование таких комбинаций в клинической практике может повысить эффективность противоопухолевой терапии.

## Новые амфифильные порфиразины для фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики опухолей

В.Д. Соломатина<sup>1</sup>, С.Д. Бондаренко<sup>1</sup>,  
Т.Р. Приходченко<sup>1</sup>, Д.В. Мищенко<sup>1–3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН», Черноголовка;

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

<sup>3</sup>НОЦ ФГАОУ ВО «Государственный университет просвещения», Мытищи  
e-mail: solo.valeria@icloud.com

**Введение.** Фотодинамическая терапия (ФДТ) — это малоинвазивный метод лечения онкозаболеваний с использованием фотосенсибилизаторов, которые избирательно накапливаются в ЗНО и после возбуждения светом

генерируют активные формы кислорода, что приводит к гибели опухолевых клеток.

**Цель исследования** — изучить фотодинамическую активность амфифильных низкосимметричных порфиразинов с diaзепиновыми фрагментами на ЗНО.

**Материалы и методы.** В эксперименте использовались мыши линии BDF1 с карциномой молочной железы Ca755, полученные из УНУ «Питомник и виварий» ФИЦ ПХФ и МХ РАН, которым однократно внутривенно вводили фотосенсибилизатор в дозе 10 мг/кг. Накопление исследуемых соединений в опухоли контролировали по сигналу флуоресценции *in vivo* в системе визуализации и анализа флуоресцентных сигналов. После сеанса ФДТ отслеживали размеры опухолей, массу тела, поведение мышей, а также оценивали выживаемость.

**Результаты.** Было выявлено, что амфифильные низкосимметричные порфиразины с diaзепиновыми фрагментами способны избирательно накапливаться в карциноме Ca755, что дает возможность визуализировать границы опухолей. Торможение роста опухолей после сеанса ФДТ сопоставимо с препаратом фотодитазин и не сопровождается проявлением клинических признаков интоксикации экспериментальных животных, особенностей в поведении не отмечалось, статистически значимых различий в изменении массы тела контрольных и опытных групп животных не выявлено.

**Заключение.** Низкосимметричные порфиразины с diaзепиновыми фрагментами избирательно накапливаются в опухоли и обладают терапевтической эффективностью, а также не проявляют токсичности при однократном внутривенном введении мышам-гибридам в дозах, превышающих терапевтическую в 10 раз.

*Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ (№ 124020500019-2).*

## Сравнение показателей маркеров CD38 и CD107 в процессе культивирования *in vitro* на поверхности клеток натуральных киллеров, выделенных из крови онкопациентов и здоровых доноров

М.В. Бекетова<sup>1</sup>, К.Д. Балышева<sup>1</sup>, Н.В. Грищенко<sup>1</sup>,  
Р.В. Журиков<sup>1</sup>, Е.В. Абакушина<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ООО «Текон Медицинские Приборы», Москва;

<sup>2</sup>ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, Москва

e-mail: mariia.beketova.bio@gmail.com

**Введение.** Иммунотерапия с использованием натуральных киллеров (НК) представляет собой перспективный метод лечения различных онкологических заболеваний. НК-клетки могут быть получены в достаточном количестве при культивировании *in vitro* из мо-



нонуклеарных клеток периферической крови (МНПК). Анализ функциональной активности NK-клеток на этапах культивирования — актуальная научно-практическая задача.

**Цель исследования** — сравнить уровень экспрессии маркера цитотоксичности (CD38) и функциональной активности (CD107) NK-клеток из крови онкопациентов и здоровых доноров.

**Материалы и методы.** Было проведено 12 циклов культивирования с МНПК от здоровых доноров и 12 — от онкопациентов. МНПК выделяли из венозной крови на градиенте плотности и культивировали в среде RPMI-1640 с IL-2 и АПК на протяжении 14 дней. Оценивали долю NK, экспрессирующих CD107 в цитотоксическом тесте с линией K562 и CD38, на 0, 7 и 14-й дни культивирования методом проточной цитофлуориметрии.

**Результаты.** На 0-й день у NK онкопациентов уровень CD38 составил 49 % ( $p = 0,019$ ) по сравнению с 24 % у здоровых доноров. На 7-й день показатель CD38 увеличился до 98,6 % у онкопациентов ( $p = 0,004$ ) против 69,5 % у здоровых. На 14-й день у онкопациентов уровень CD38 составил 92 % ( $p = 0,00001$ ), что в 2 раза выше, чем у доноров — 46 %. К 14-му дню наблюдается тенденция повышения экспрессии CD107 у онкобольных по сравнению с донорами (4,9 и 2,12 % соответственно;  $p = 0,1$ ), хотя на 0-й день различий не выявлено (1,85 и 1,56 % соответственно;  $p = 0,7$ ). В цитотоксическом тесте на 14-й день также наблюдается повышенная экспрессия CD107 у онкобольных по сравнению со здоровыми (29,7 и 18,6 % соответственно;  $p = 0,1$ ), хотя на 0-й день выраженных различий не отмечается (20,1 и 21,9 % соответственно;  $p = 0,8$ ).

**Заключение.** NK-клетки онкопациентов исходно обладают более высоким уровнем экспрессии CD38, что свидетельствует об их большей активации в кровотоке. Однако активация этих клеток при культивировании менее интенсивна (в 1,4 раза) по сравнению со здоровыми донорами (в 2,4 раза). Уровень маркера дегрануляции (CD107) у онкологических больных на NK-клетках после культивирования выше, чем у здоровых доноров. Полученные данные указывают на различия в активности NK-клеток у онкологических больных.

*Публикация подготовлена на основании результатов, полученных в ходе реализации Соглашения о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научных центров мирового уровня, выполняющих исследования и разработки по приоритетам научно-технологического развития от 20 апреля 2022 г. № 075-15-2022-310.*

## Влияние синтетических 1,2,4-триазол-3-карбоксамидов на экспрессию инозин-5'-монофосфатдегидрогеназы (IMPDH) в клетках опухолей кроветворной системы

Д.В. Степаньчева<sup>1</sup>, Е.Д. Савина<sup>2</sup>, Л.Е. Гребенкина<sup>2</sup>,  
Е.А. Михина<sup>2</sup>, Е.А. Лесовая<sup>1,3,4</sup>, А.В. Матвеев<sup>2</sup>,  
М.Г. Якубовская<sup>1,3</sup>, Е.М. Жидкова<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «МИРЭА — Российский технологический университет», Москва;

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

<sup>4</sup>ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва  
e-mail: darya.stepanycheva@yandex.ru

**Введение.** Инозин-5'-монофосфатдегидрогеназа (IMPDH) — фермент биосинтеза пуринов, присутствующий в клетках в двух изоформах (I/II). Изоформа I конститутивно экспрессирована как в нормальных, так и в трансформированных клетках, в то время как уровень IMPDH II повышен в клетках ЗНО, в частности опухолей кроветворной системы, что делает ее потенциальной мишенью противоопухолевой терапии. Накопление IMPDH II в ядре является следствием ответа клетки на оксидативный и репликативный стрессы. Одним из препаратов, специфичным к IMPDH, является противовирусный препарат рибавирин. Ранее нами были получены и охарактеризованы производные агликона рибавирина (1,2,4-триазол-3-карбоксамид, ТКА), обладающие цитотоксическими и цитостатическими действиями *in vitro* в клетках опухолей кроветворной системы.

**Цель исследования** — оценка действия рибавирина, ТКА и аналогов рибавирина на уровень белков IMPDH I/II в клетках опухолей кроветворной системы.

**Материалы и методы.** Клетки хронического миелолейкоза K562 и острого лимфобластного лейкоза CCRF-CEM инкубировали с исследуемыми препаратами в субтоксичных концентрациях в течение 24 ч. Далее выделяли цитоплазматическую и ядерную фракции и проводили анализ уровня белков методом вестерн-блоттинга с использованием антител, специфичных к IMPDH I и II. Результаты нормировали на уровень белка GAPDH или гистона H3.

**Результаты.** Было показано, что рибавирин и ТКА повышают уровень IMPDH II в ядерной фракции клеток линии K562 в 2,2–3,5 раза, при этом не влияя на уровень белка в цитоплазме. 5-(тетрагидрофуран-2-ил)-ТКА и 5-п-децилоксиметил-ТКА индуцируют накопление ядерной фракции белка и в то же время

приводят к снижению цитоплазматической фракции белка в среднем в 2 раза.

**Заключение.** Соединения 5-(тетрагидрофуран-2-ил)- и 5-п-децилоксиметил-ТКА индуцируют ядерную транслокацию IMPDH II в клетках хронического миелолейкоза *in vitro*, что свидетельствует об индукции репликативного стресса исследуемыми соединениями.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 23-25-00382).*

### Антиоксидантные и цитопротекторные свойства производного пиридоксина В6NO – активатора транскрипционного фактора Nrf2 при моделировании кардиотоксичности у животных-опухоленосителей *in vivo*

О.С. Суворова<sup>1,2</sup>, А.А. Балакина<sup>1</sup>, В.И. Амозова<sup>1</sup>, Т.Р. Приходченко<sup>1</sup>, Д.В. Мищенко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН», Черноголовка;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», Москва  
e-mail: olya.suvorova.02@list.ru

**Введение.** Применение доксорубина при лечении опухолевых заболеваний ограничено рядом его побочных эффектов, наиболее опасным из которых является кардиотоксичность. Транскрипционный фактор Nrf2 регулирует гомеостаз клеток сердечно-сосудистой системы, подавляя окислительный стресс и активируя экспрессию кардиопротекторных генов, однако его сверхэкспрессия в опухолях может снижать эффективность ХТ. Актуальным является поиск новых препаратов, обладающих кардиопротекторной активностью, но не снижающих противоопухолевый эффект доксорубина.

**Цель исследования** — изучение кардиопротекторного действия нитроксисукцината ди(3-гидрокси-4,5-бис(гидроксиметил)-2-метилпиридиния) (В6NO) у животных-опухоленосителей при введении доксорубина.

**Материалы и методы.** Эксперименты проводили *in vivo*. В экспериментах использовали мышей-самцов гибридной линии BDF<sub>1</sub> с перевиваемой опухолью — меланомой В16. Концентрацию Nrf2 в тканях сердца и опухоли оценивали при помощи ИФА. Изменение экспрессии генов изучали с применением ПЦР-РВ. Влияние В6NO на уровень активности АСТ и АЛТ в крови оценивали с помощью биохимического анализа. Уровень перекисного окисления липидов в тканях сердца определяли по концентрации малонового диальдегида.

**Результаты.** Было показано, что В6NO увеличивает экспрессию Nrf2 и его генов-мишеней в клетках

сердца животных, но не в клетках опухоли. Введение В6NO снижало активность маркера повреждения сердца АСТ в крови и уровень перекисного окисления липидов, а также повышало содержание восстановленного глутатиона в тканях сердца на фоне применения доксорубина. Использование комбинации антиоксиданта и доксорубина не снижало противоопухолевый эффект.

**Заключение.** В6NO показывает ярко выраженный кардиопротекторный эффект при использовании совместно с доксорубином в экспериментальной ХТ опухолей *in vivo* и является перспективным соединением для разработки на его основе лекарственных препаратов.

*Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ № 124020500019-2.*

### Водорастворимое производное фуллерена C60 полиолметанофуллерен нарушает клеточный цикл и индуцирует апоптоз в OXPHOS-зависимых опухолевых клетках

Г.Р. Тарасова<sup>1</sup>, Г.М. Фазлеева<sup>2</sup>, Л.Н. Исламова<sup>2</sup>, Н.В. Калачева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт фундаментальной медицины и биологии, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань;

<sup>2</sup>Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ Казанский научный центр РАН, Казань  
e-mail: 7gulzada7@mail.ru

**Введение.** Исследования последних лет свидетельствуют о том, что во многих видах рака активировано окислительное фосфорилирование (OXPHOS), поэтому поиск препаратов, нацеленных на OXPHOS является перспективным направлением в борьбе с этими типами рака. Объект настоящего исследования — водорастворимое производное фуллерена C<sub>60</sub> полиолметанофуллерен C<sub>60</sub>[C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>(OH)<sub>4</sub>]<sub>6</sub>. Ранее нами было показано, что он проявляет свойства мягкого разобщителя дыхания и OXPHOS и избирательно снижает митохондриальный потенциал в клетках с гиперполяризованными митохондриями.

**Цель исследования** — изучение действия полиолметанофуллерена на клеточный цикл и жизнеспособность OXPHOS-зависимых опухолевых клеток.

**Материалы и методы.** Полиолметанофуллерен синтезирован сотрудниками института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова (Казань). Эксперименты проводили на OXPHOS-зависимых клеточных линиях колоректальной карциномы HCT-116 и глиобластомы SNB-19, полученных из Американской коллекции типовых культур (ATCC, США). Действие полиолметанофуллерена на клеточный цикл и жизнеспособность

опухолевых клеток исследовали методом проточной цитофлуориметрии с помощью пропидия йодида и аннексина V.

**Результаты.** Анализ фаз клеточного цикла показал, что после инкубации с полиолметанофуллереном (180  $\mu$ M, 48 ч) в обеих линиях увеличивается количество клеток в G1 фазе. Это указывает на торможение клеточного цикла в этой фазе и приводит к значительному сокращению количества клеток, находящихся в S и G2 фазах. Кроме того, наблюдается накопление клеточной популяции в фазе Sub-G1, что свидетельствует об индукции в клетках апоптоза. Результаты проточной цитометрии с аннексином V подтвердили гибель этих клеток путем апоптоза. При максимальной концентрации 180  $\mu$ M и 48-часовой инкубации процент апоптотических клеток составляет в среднем 33 % (карцинома HCT-116) и 46 % (глиобластома SNB-19).

**Закключение.** Выявленная способность полиолметанофуллерена нарушать клеточный цикл и индуцировать апоптоз в OXPHOS-зависимых клеточных линиях карциномы и глиобластомы обосновывает целесообразность дальнейшего изучения полиолметанофуллерена в качестве нового митохондриально-адресованного противоопухолевого препарата.

*Работа выполнена при поддержке*

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

## Действие нитрозильного комплекса железа с N-этилтиомочевинной вызывает активацию Nrf2/HO1-пути антиоксидантного ответа и гибель клеток глиобластомы

А.А. Терехова, В.И. Амозова, Т.С. Ступина,  
Н.А. Санина, А.А. Балакина

ФГБУН «ФИЦ проблем химической физики  
и медицинской химии РАН», Черноголовка  
e-mail: k.sana.13@yandex.ru

**Введение.** Генерация активных форм кислорода (АФК) значительно влияет на прогрессирование опухоли и развитие лекарственной устойчивости при терапии глиобластом. Активация таких факторов транскрипции, как Nrf2 или NF- $\kappa$ B, может вызывать как подавление окислительного стресса и различных путей клеточной гибели, так и окислительно-восстановительную перегруппировку клеточных систем, что приводит к появлению опухолевых клеток с новым редокс-статусом. Серанитрозильный комплекс железа с N-этилтиомочевинной (ЕТМ) обладает уникальной избирательной активностью по отношению к клеткам глиобластомы *in vitro* и способностью значительно влиять на редокс-гомеостаз опухолевых клеток.

**Цель исследования** — изучить влияние комплекса ЕТМ на внутриклеточное накопление АФК и монооксида азота, процессы клеточной гибели и активацию редокс-чувствительных транскрипционных факторов Nrf2 и NF- $\kappa$ B в клетках глиобластомы *in vitro*.

**Материалы и методы.** Исследование проводилось на трех клеточных линиях глиобластомы человека — A-172, U-87 MG и U-251 MG — с использованием методов иммунофлуоресцентной микроскопии, иммуноблоттинга, ПЦР-PB, проточной цитофлуориметрии.

**Результаты.** Действие комплекса ЕТМ на клетки глиобластомы *in vitro* сопровождается усилением генерации АФК, накоплением внутриклеточного NO, снижением митохондриального мембранного потенциала и индукцией каспаза<sup>3</sup>-зависимого апоптоза. Основную роль в регуляции редокс-зависимых процессов при действии комплекса играет Nrf2/HO1-путь, активация которого приводит к усилению антиоксидантных ответов. Показано, что индукция данного пути может не подавлять экспрессию NF- $\kappa$ B и его генов-мишеней, но не позволяет реализовать NF- $\kappa$ B-опосредованные механизмы защиты опухолевых клеток. Nrf2-зависимый ответ в более чувствительных к ЕТМ клетках (A-172) возникает при гораздо меньших внутриклеточных концентрациях АФК молекул по сравнению с резистентными клетками (U-251 MG).

**Закключение.** Таким образом, показано, что в клетках различных линий глиобластомы независимо от чувствительности к действию ЕТМ происходят резкое увеличение генерации внутриклеточных АФК, активация Nrf2/HO1-пути антиоксидантного ответа и процессов апоптотической клеточной гибели. Полученные данные имеют большое значение для дальнейших исследований серанитрозильных комплексов железа как потенциальных противоопухолевых соединений.

*Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ (№ 124020500019-2).*

## Оценка некоторых морфологических признаков в крае резекции в случаях развития несостоятельности анастомоза

А.А. Урюпина<sup>1</sup>, А.А. Погосян<sup>1</sup>, М.В. Гулян<sup>2</sup>, М.А. Додохова<sup>2</sup>,  
М.С. Алхусейн-Кулягинова<sup>2</sup>, Д.Н. Польшамедов<sup>2</sup>,  
О.В. Воронова<sup>3</sup>, И.М. Котиева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГБУ РО «Городская больница № 6», Ростов-на-Дону;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону;

<sup>3</sup>ГБУ РО «Патологоанатомическое бюро», Ростов-на-Дону  
e-mail: dodohova@mail.ru

**Введение.** Несостоятельность анастомоза является потенциально фатальным осложнением абдоминальной онкологии. Определение совокупности технических аспектов и патогенетических механизмов данного осложнения может выявить пациентов, которым

требуется усиленное послеоперационное наблюдение со снижением послеоперационной летальности.

**Цель исследования** — сравнительная оценка морфологической картины гистологического материала (архивных блоков) хирургических краев резекции в случаях развития несостоятельности толстокишечного анастомоза при левосторонней гемиколэктомии с наложением толсто-толстокишечного анастомоза по поводу аденокарциномы левых отделов ободочной кишки II стадии.

**Материалы и методы.** Проведено ретроспективное исследование всех случаев релапаротомии по поводу несостоятельности толстокишечного анастомоза при левосторонней гемиколэктомии с наложением толсто-толстокишечного анастомоза за период с 2013 по 2023 г. ( $n = 158$ ) по материалам ГБУ РО «Городская больница №6», выполнено повторное морфологическое исследование архивных блоков гистологического материала хирургических краев резекции (дистального и проксимального) при первичной операции левосторонней гемиколэктомии с наложением толсто-толстокишечного анастомоза. При анализе оценивалось наличие или отсутствие патологических изменений полуколичественным методом (легкая, умеренная, высокая степени). Для визуализации морфологических изменений использовали метод окраски гематоксилином и эозином по классическому протоколу, окраску по ван Гизону.

**Результаты.** Установлено, в 100 % случаев гистологический материал хирургических краев резекции (дистального и проксимального) при первичной операции левосторонней гемиколэктомии с наложением толсто-толстокишечного анастомоза имел следующие особенности: высокая степень лейкоцитарной инфильтрации и отека подслизистого слоя, слабая выраженность соединительной ткани.

**Заключение.** Выявленные нами особенности позволяют предположить наличие предрасположенности к развитию несостоятельности анастомоза и требуют дальнейшего изучения.

## Экспрессия фибробластами антигенпрезентирующих и костимулирующих рецепторов под воздействием провоспалительных цитокинов

Ф.А. Фадеев

ГИАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»,  
Екатеринбург  
e-mail: fdf79@mail.ru

**Введение.** Известно, что функциональная активность фибробластов не сводится к роли продуцентов внеклеточного матрикса и формирователей соединительной ткани. Фибробласты также обладают функцией регуляции иммунного ответа, в частности пока-

зана способность опухолеассоциированных фибробластов к формированию иммуносупрессивной микросреды в опухоли. В то же время фибробласты могут оказывать иммуностимулирующий эффект за счет продукции провоспалительных цитокинов. В этом случае роль фибробластов в противоопухолевом ответе может оказаться двоякой и сводиться как к ингибированию, так и к стимуляции Т-клеточного звена иммунитета. При этом иммунорегуляторная функция фибробластов, вероятно, не ограничивается их секреторной активностью. Интерес представляет также возможность непосредственной презентации фибробластами антигенов Т-лимфоцитам и/или воздействие на них костимулирующими рецепторами.

**Цель исследования** — оценить экспрессию фибробластами человека антигенпрезентирующих и костимулирующих рецепторов под воздействием провоспалительных цитокинов.

**Материалы и методы.** Фибробласты дермы человека высевали в ростовые среды с добавлением соответствующих цитокинов (TNF- $\alpha$ , ИФН- $\alpha$  и ИФН- $\gamma$ ) или их смесей. После культивирования в течение 5 сут клетки снимали с пластика и окрашивали мечеными антителами к соответствующим рецепторам. Экспрессию рецепторов определяли методом проточной цитофлуориметрии.

**Результаты.** Воздействие ИФН- $\gamma$  приводило к появлению на клетках антигенпрезентирующих рецепторов HLA-DR. Также на фибробластах был выявлен костимулирующий рецептор CD40, количество которого заметно повышалось в среде со смесью TNF- $\alpha$  и ИФН- $\gamma$ . Помимо этого, была показана экспрессия фибробластами рецептора CD11c, являющегося маркером дендритных клеток и играющего важную роль в акцепции антигенов. Количество CD11c также очень существенно увеличивалось при сочетанном воздействии TNF- $\alpha$  и ИФН- $\gamma$ .

Экспрессия фибробластами антигенпрезентирующих и костимулирующих рецепторов делает потенциально возможным их непосредственное контактное взаимодействие (рецептор-рецептор) с Т-клетками, а увеличение уровня экспрессии этих рецепторов в присутствии цитокинов, вырабатываемых Т-лимфоцитами, делает возможным образование позитивной обратной связи со взаимной активацией Т-лимфоцитов и фибробластов в среде опухолевой ткани. При этом результаты предполагаемого взаимодействия также являются неясными: сопровождается ли оно появлением эффекторных Т-клеток с противоопухолевой активностью или, напротив, появлением регуляторных Т-клеток с иммуносупрессорной функцией, подавляющих иммунный ответ.

**Заключение.** Провоспалительные цитокины стимулируют экспрессию фибробластами антигенпрезентирующих и костимулирующих рецепторов для Т-лимфоцитов, что может оказывать влияние на активность Т-клеток. Роль данного феномена в противоопухолевом иммунном ответе в условиях опухолевой микросреды требует дальнейшего изучения.



## Фосфопротеомика в идентификации потенциальных маркеров эффекта сунитиниба при лечении пациентов с церебральными метастазами почечно-клеточного рака

В.Е. Шевченко, Т.И. Кушнир, И.А. Кудрявцев,  
А.А. Митрофанов, А.Х. Бекашев, Н.Е. Арноцкая

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава  
России, Москва  
e-mail: vshev2015@yandex.ru

**Введение.** При терапии метастатического ПКР сунитинибом отсутствуют тканевые базовые прогностические биомаркеры. Из-за множества механизмов резистентности при ПКР одного геномного анализа недостаточно для прогнозирования ответа на сунитиниб. Анализ функциональных сигнальных путей может быть более перспективным подходом. По нашему мнению, сравнительное изучение фосфопротеома опухолевой ткани первичного и метастатического ПКР может использоваться для идентификации маркеров эффекта сунитиниба.

**Цель исследования** — идентификация потенциальных маркеров эффекта сунитиниба при лечении пациентов с распространенным ПКР.

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

**Результаты.** Впервые проведен анализ фосфопротеомов образцов опухолевой ткани церебральных метастазов пациентов ПКР, полученных нами, в сравнении с первичным ПКР открытой базы данных PRIME. Идентифицировано 158 протеинов с различными фосфосайтами, модифицированными серинспецифической, треонинспецифической, серин/треонинспецифической, тирозинспецифической протеинкиназой (S, T, Y), включая 105 (S), 31 (T) 12 (S/T), 10 (Y)-белки. Идентифицированы потенциальные предиктивные маркеры эффекта сунитиниба. Маркеры отсутствия эффекта сунитиниба: EIF4A2 (Y251), GDI1 (Y93). Маркеры положительного эффекта сунитиниба: FLNA (Y346), CAV1 (Y11), PPA2 (Y241), EGFR (Y1138).

**Заключение.** Масс-спектрометрический фосфопротеомный анализ выявил дифференциальные фосфосайты и киназную активность, связанную с резистентностью и чувствительностью к сунитинибу церебральных метастазов.

## Исследование действия природного алкалоида берберина на клетки рака молочной железы человека

К.А. Фролова, Е. Наминат, О.Ю. Шувалов,  
Н.А. Барлев, А.А. Дакс

ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург  
e-mail: kseaf2003@gmail.com

**Введение.** Посттрансляционные модификации обеспечивают регуляцию стабильности, активности и внутриклеточную локализацию белков. Метилирование является одной из основных модификаций, которой подвергаются клеточные белки. При этом метилирование гистонов ведет к изменению уровня экспрессии генов и является, таким образом, одним из ключевых механизмов его регуляции. Лизин-специфическая метилтрансфераза Set7/9 метилирует широкий спектр мишеней, включая гистоны H1, H2A, H2B и H3, а также важнейшие транскрипционные факторы, такие как p53,  $\beta$ -катенин, pRb, NF- $\kappa$ B, YAP и др. Метилтрансфераза Set7/9 является важным регулятором различных онкоассоциированных молекулярных каскадов. При исследовании РМЖ было показано, что повышение уровня экспрессии Set7/9 ассоциировано с меньшей пролиферативной активностью и меньшей инвазивностью опухоли, а также сенсibilизацией клеток РМЖ к генотоксической терапии. Таким образом, актуальной задачей является поиск низкомолекулярных активаторов Set7/9 для применения в терапии РМЖ.

**Цель исследования** — изучение роли берберина, алкалоида, добываемого из некоторых растений, как потенциального активатора метилтрансферазы Set7/9.

**Материалы и методы.** Для исследования использовались клеточные линии РМЖ — MDA-MB-231, SKBR3. Для оценки уровня транскрипции проводилась ОТ-ПЦР. Уровень белка оценивался на основании вестерн-блоттерного анализа. Оценка метаболической активности клеток проводилась с использованием МТТ-теста.

**Результаты.** На клеточной модели РМЖ было показано, что берберин активирует Set7/9, что наблюдается и на уровне белка, и на уровне мРНК. Мы также показали, что обработка клеток берберинном приводит к снижению уровня монометилирования 4-го лизина гистона H3 (H3K4Me1). Именно Set7/9 осуществляет модификацию по данному сайту. Также показано, что обработка берберинном замедляет пролиферацию и снижает метаболическую активность клеток РМЖ.

**Заключение.** Полученные научные результаты могут быть использованы для разработки терапии, использующей берберин в роли активатора метилтрансферазы Set7/9. Применение берберина в составе комплексной противоопухолевой терапии может обес-

печить наибольшую эффективность препаратов, применяемых для лечения рака.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ  
(грант № 24-75-10103).*

## Ресенсибилизация резистентных клеток аденокарциномы яичника SKOV3/CDDP к цисплатину с помощью преинкубации с куркумином

А.А. Хасан<sup>1</sup>, Е.В. Калинина<sup>1</sup>, Д.Д. Жданов<sup>1</sup>,  
Ю.Л. Володина<sup>2</sup>, А.А. Штиль<sup>2</sup>, В.В. Татарский<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов  
им. Патриса Лумумбы», Москва;

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

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт биологии гена РАН», Москва  
e-mail: ali.aseel.hasan@gmail.com

**Введение.** Значительной проблемой, снижающей эффективность ХТ РЯ, является развитие резистентности к широко используемому противоопухолевому препарату цисплатину (CDDP), что способствует поиску способов ресенсибилизации цисплатин-резистентных опухолевых клеток яичника.

**Цель исследования** — оценка предлагаемой схемы преинкубации с куркумином (CUR) с целью эффективного преодоления резистентности к цисплатину клеточной линии аденокарциномы яичника SKOV-3/CDDP.

**Материалы и методы.** МТТ-анализ использовали для определения цитотоксичности CUR, проточную цитометрию — для оценки клеточного цикла и апоптоза опухолевых клеток, DEPMAP карту — для получения данных об экспрессии генов, связанных с устойчивостью опухолевых клеток к CDDP. Экспрессию генов и уровень специфических белков (Trx/Trx-системы и mTOR/STAT3-сигнального пути) определяли с помощью ПЦР-PB и вестерн-блоттинга соответственно.

**Результаты.** Результаты настоящего исследования показывают, что преинкубация клеток резистентной линии SKOV-3/CDDP с куркумином (инкубация с 17  $\mu$ M CUR, 24 ч с последующей инкубацией с 17  $\mu$ M CDDP, 72 ч) вызывает значительный цитотоксический эффект и подавление пролиферации по сравнению с комбинированным методом (17  $\mu$ M CUR + 17  $\mu$ M CDDP, 72 ч). Обнаружено, что преинкубация с CUR индуцирует апоптоз в клетках SKOV-3/CDDP митохондриальным апоптотическим путем (расщепленные каспазы 9, 3 и расщепленный PARP), а также ингибирование тиоредоксинредуктазы (TrxR) и mTOR/STAT3-зависимого сигнального пути.

**Заключение.** Полученные результаты могут способствовать расширению нашего понимания противоопухолевого механизма предварительной терапии курку-

мином, который способствует ресенсибилизации резистентных клеток РЯ к CDDP и может быть использован в разработке эффективной терапии для преодоления лекарственной устойчивости ЗНО.

## Циклофилин А индуцирует дифференцировку незрелых макрофагов, усиливая их адгезивные свойства

Л.М. Хромых, А.А. Калинина, Н.А. Персиянцева,  
Д.Б. Казанский

Лаборатория механизмов регуляции иммунитета  
НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии  
им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва  
e-mail: lkchromykh@list.ru

**Введение.** Циклофилин А (ЦФА) — белок семейства изомераз (18 кДа), который является провоспалительным фактором и принимает участие в формировании очага воспаления. ЦФА секретируется зрелыми макрофагами при их активации и является хемоаттрактантом для незрелых предшественников различных ростков дифференцировки, а также зрелых макрофагов, дендритных клеток, нейтрофилов и активированных Т-лимфоцитов. Ранее было показано, что ЦФА является фактором противоопухолевой защиты организма. ЦФА принимает участие в дифференцировке дендритных клеток, индуцируя антигенную презентацию и секрецию провоспалительных цитокинов. Однако роль ЦФА в функционировании макрофагов на сегодняшний день изучена недостаточно.

**Цель исследования** — оценка дифференцировочного действия рекомбинантного ЦФА человека (рЧЦФА) по его способности индуцировать адгезию ранних предшественников макрофагов.

**Материалы и методы.** В работе использовали моноцитарные клетки человека THP-1, дифференцировку которых индуцировали форболмеристатацетатом (РМА) в дозах 5, 10, 50, 100, 500, 1000 нг/мл. Одновременно в культуру добавляли рЧЦФА в количестве 1; 10, 25, 50 мкг/мл. Клетки культивировали в 96-луночной планшете в количестве  $30 \times 10^3$  клеток в лунку в течение 72 ч. Уровень адгезии в культурах определяли при помощи МТТ-теста, предварительно удалив неприкрепившиеся клетки.

**Результаты.** Было показано, что низкие дозы РМА (5 и 10 нг/мл) не индуцируют прикрепление THP-1 к субстрату и кокультивирование с рЧЦФА не влияет на адгезивные свойства таких клеток. РМА в концентрациях 50–1000 нг/мл приводит к частичной адгезии клеток THP-1, при этом внесение рЧЦФА в количестве 1 и 10 мкг/мл не изменяет долю прикрепленных клеток в культурах, индуцированных 50, 500 и 1000 нг/мкл РМА. Однако при одновременной обработке клеток РМА в дозе 50 нг/мл и рЧЦФА в концентрациях 25 и 50 мкг/мл

отмечали увеличение их адгезии в 2–3 раза соответственно относительно контрольных значений. При использовании 100 нг/мл РМА адгезия ТНР-1 усиливалась в 1,5–2 раза относительно контроля при всех используемых дозах рЧЦФА. В случае применения высоких доз РМА (500–1000 нг/мл) при внесении 25 и 50 мкг/мл рЧЦФА отмечали достоверное снижение количества прикрепленных клеток.

**Заключение.** Полученные данные указывают на способность рЧЦФА усиливать адгезивные свойства макрофагов, стимулируя их созревание. При этом процесс дифференцировки макрофагов под воздействием ЦФА зависит от степени их исходной активации и концентрации ЦФА. Предположительно, повышенный уровень ЦФА в очаге воспаления может способствовать адгезии незрелых макрофагов и, следовательно, стимулировать развитие как врожденного, так и адаптивного иммунного ответа.

### Электрохимическое восстановление меди потенцирует гибель опухолевых клеток

К.В. Чернов<sup>1</sup>, Е.С. Барская<sup>2</sup>, Е.К. Белоглазкина<sup>2</sup>,  
А.А. Штиль<sup>3</sup>, С.А. Цымбал<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет ИТМО», Санкт-Петербург;

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

<sup>3</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Минздрава России, Москва

e-mail: kirillchernoff2000@gmail.com

**Введение.** Мишень-направленные подходы, эффективные в лечении первичных опухолей, утрачивают значение при поздних стадиях заболевания. Требуется выявление механизмов гибели, функционирующих в рецидивных опухолях и метастазах. Нами разработан метод индукции гибели клеток при комбинировании соединений меди с N-ацетилцистеином (НАС): восстановление меди (II) и формирование радикалов кислорода. Развитие идеи — кислородный «взрыв» в метастатических очагах. Бисфосфонаты применяются для терапии остеолитических повреждений. Предполагается, что конъюгаты этих соединений с катионами меди (II) окажут терапевтическое действие за счет эффективности бисфосфоната, а добавление восстановителя индуцирует окислительный «взрыв» и гибель клеток в местах накопления конъюгата (костная ткань).

**Цель исследования** — выявить способность новых конъюгатов вызывать гибель культивируемых клеток человека в комбинациях с восстановителем.

**Материалы и методы.** Синтезирована первоначальная серия комплексов меди (II) с бисфосфонатом. Детали структуры не приводятся, так как соединения подлежат патентованию. Цитотоксичность оценивали в МТТ-тестах на линиях клеток рака кишки, лейкоза

и фибробластов костномозгового происхождения после 72-часовой инкубации с НАС или без него.

**Результаты.** Синтезирована первоначальная серия медь-бисфосфонатов. Определены диапазоны цитотоксических концентраций соединений для указанных линий клеток. Комбинирование новых конъюгатов с НАС (компоненты комбинаций использованы в нетоксичных концентрациях) приводило к существенному увеличению гибели клеток рака кишки, лейкоза и костномозговых фибробластов. НАС снижал IC50 новых конъюгатов на 2–3 порядка.

*Работа поддержана грантом РакФонда  
(договор № 1/2024).*

### Регуляция клеточной пролиферации и канцерогенез: структурные и функциональные различия KLHL белков

Г.А. Шиловский<sup>1</sup>, Д.В. Диброва<sup>1</sup>, А.А. Коковихина<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Ижевский государственный технический университет им. М.Т. Калашникова», Ижевск

e-mail: grgerontol@gmail.com; gregory\_sh@list.ru

**Введение.** Разнообразие белков семейства KLHL у человека достигает 42 (возможно, их и больше), что обеспечивает тонкую регуляцию разнообразных процессов, связанных с клеточной пролиферацией, в том числе канцерогенеза. KLHL как адапторные белки-субстраты лигаз Cul3-E3 участвуют в возникновении и развитии нескольких типов опухолей и регулируют различные сигнальные пути, включающие путь PI3K/AKT, передачу сигналов mTOR и Wnt/β-катенина, сигнальный путь NF-κB, сигнальный путь Hippo и аутофагию. Изменение уровня экспрессии белков KLHL тесно связано с наследственными и приобретенными патологиями.

**Цель исследования** — оценка и сопоставление данных о канцерогенности и экспрессии белков семейства KLHL человека в разных тканях с последующей характеристикой отличий в первичной структуре функциональных доменов.

**Материалы и методы.** Была получена выборка белков семейства KLHL человека с набором характерных для них доменов, а также последовательности гомологичных белков в других организмах. По выравниванию с помощью web-сервиса NGPhylogeny алгоритмом FastME было построено филогенетическое дерево (параметры алгоритма: модель аминокислотных замен JTT, равномерное распределение скоростей замен по позициям, гэпы учитываются при подсчете расстояний между последовательностями через попарное удаление, алгоритм поиска лучшего дерева NNI + SPR, 100 реплик бутстрепа). Свойства белков (если не указано

иное) получены из баз <https://www.genecards.org/> и <https://www.proteinatlas.org/>. Характеристики функциональных доменов белков в случаях необычных представителей проводили, используя модели трехмерных структур, построенных AlphaFold. Базы данных включали CCLE (Энциклопедию линий опухолевых клеток), GEPIA (Интерактивный анализ профиля экспрессии генов) и TCGA (Атлас генома рака). В данном сравнительном исследовании мы описываем филогению семейства KLHL человека с точки зрения позиций, ответственных за функциональную и набор аминокислот, ответственного за взаимодействие с куллином и взаимосвязи структуры белков KLHL с онкологическими заболеваниями.

**Результаты.** В семействе KLHL выделяются три сходные по размеру большие клады, включающие 12, 10 и 15 белков. У не входящих в них белков KBTBD2, -6, -7, -8 консервативные мотивы в повторах Kelch изменены: они обычно не содержат двойного глицинового повтора в первом и последнем фрагменте β-пропеллера. Однако аналогичные расхождения наблюдаются и у некоторых общепризнанных представителей KLHL, например KLHL-40 и -41. Тем не менее AlphaFold по-прежнему уверенно предсказывает, что у них есть 6 лезвий в их домене DGR. По итогам множественного выравнивания мы выделили основные наиболее часто встречающиеся аминокислотные позиции и наложили их на карту функциональных доменов KLHL.

**Заключение.** Выявленные наиболее консервативные аминокислотные позиции у белков KLHL содержатся в доменах, ответственных за связывание с белком-мишенью (DGR-домен), также в доменах, ответственных за связывание с Cul3 (и необходимых для последующей протеасомной деградации белка-мишени), и в димеризационных доменах (KLHL функционально активны в виде гомодимера). Сопоставление полученных результатов показало, что наибольший вклад в развитие опухолей вносят не наиболее «агрессивные» (по Xiang) белки KLHL, но KLHL, регулирующие сигнальные пути.

## NOS/PDK-ингибитор – новый подход к противоопухолевой терапии

А.А. Шитова, О.В. Солдатова, А.С. Филимонов,  
Л.И. Шевченко, В.А. Рыбачук, К.А. Николаев,  
А.О. Косаченко, И.К. Волкова, М.В. Филимонова

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

**Введение.** На сегодняшний день антиангиогенная терапия рассматривается как одна из перспективных стратегий лечения солидных форм рака. Некоторые исследования свидетельствуют о способности ряда ингибиторов синтаз оксида азота (NOS) оказывать антиангиогенное действие на солидные опухоли. Однако клиническая эффек-

тивность антиангиогенной терапии остается ограниченной, что связано со способностью неоплазий адаптироваться к внутриопухолевой гипоксии.

В лаборатории радиационной фармакологии МРНЦ им. А.Ф. Цыба был предложен новый подход к повышению эффективности антиангиогенных средств, который заключается в сочетании на уровне одной химической структуры антиангиогенного NOS-ингибирующего фрагмента и гипоксия-ориентированного PDK-ингибирующего фрагмента, токсическое действие которого затрагивает преимущественно гипоксические опухолевые клетки.

**Цель исследования** – экспериментально оценить фармакологические, биохимические свойства и особенности противоопухолевой активности оригинального NOS/PDK-ингибитора.

**Материалы и методы.** Настоящая работа включала оценку *in vitro* цитотоксичности исследуемого соединения и его предшественников в отношении злокачественных и нормальных клеток человека методом МТТ-теста, исследования *in vivo* биохимической активности (NOS и PDK-ингибирующей) амперометрическим и феррицианидным методами и оценку противоопухолевых эффектов на моделях РШМ (РШМ5) и меланомы B16 мышей, используя морфологические, гистологические и ИГХ-методы.

**Результаты.** В биохимических исследованиях было показано, что оригинальное соединение проявляет как NOS, так и PDK-ингибирующую активность на уровне активности соединений-предшественников. В исследованиях *in vitro* наиболее чувствительными к цитотоксическому действию NOS/PDK-ингибитора были клетки меланомы (A375) и клетки РШМ человека (HeLa). В исследованиях *in vivo* было показано, что РШМ5 и меланома B16 быстро уклонялись от действия соединений-предшественников. Напротив, обе опухолевые модели были высокочувствительны к действию NOS/PDK-ингибитора: наблюдался более выраженный статистически значимый противоопухолевый эффект (ТРО 45–60 %). В ИГХ-исследованиях установлено, что NOS/PDK-ингибитор статистически значимо снижал количественную плотность кровеносных сосудов, уменьшал количество CD31-позитивно окрашенных ядер эндотелиальных клеток, снижал долю Ki-67-положительных ядер и увеличивал количество иммунопозитивных опухолевых клеток к Caspase-3. Кроме того, противоопухолевое действие NOS/PDK-ингибитора было безопасным и не сопровождалось развитием каких-либо токсических эффектов.

**Заключение.** Совокупность полученных данных свидетельствует, что совмещение антиангиогенного и гипоксия-ориентированных фрагментов (в данном случае – в пределах молекулярной структуры действующего вещества) способно повышать противоопухолевый эффект и подавлять развитие гипоксической резистентности неоплазий.



## О неопределенности понятия «терапевтическая мишень»

А.А. Штиль<sup>1</sup>, В.В. Татарский<sup>2</sup>,  
М.С. Павлюков<sup>3</sup>, Н.В. Антипова<sup>3</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт биологии гена РАН», Москва;

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт биоорганической химии  
им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН», Москва  
e-mail: shtilaa@yahoo.com

Термин «терапевтическая мишень» подразумевает молекулярный механизм, инактивация которого вызывает гибель опухолевых клеток при возможно меньшем повреждении неопухолевых. Разработка мишень-направленных воздействий знаменует современный этап лекарственной терапии опухолей. На этом пути понятие «терапевтическая мишень» сталкивается с трудностями. На примере производных пиридохиназолина, первоначально синтезированных как ингибиторы протеинкиназ семейств dual-specificity tyrosine-regulated kinases (DYRK) и CDC-like kinases (CLK), авторы прослеживают ряд сложностей в интерпретации мишень-специфических эффектов этих соединений в клетках глиобластомы (Borisevich et al. Cancers 2024;16:834). Два производных, отличающихся лишь одной заменой в гетероцикле, в бесклеточных системах и культурах клеток вызывают и схожие эффекты, и различия, а priori не предсказываемые для этого класса соединений. Оба соединения вызывают гибель клеток разного тканевого происхождения, в том числе неопухолевых, что ставит под сомнение роль DYRK/CLK как терапевтических мишеней. При этом обнаруживается противоопухолевая активность в ортотопической модели глиобластомы. Что важнее для соединения-кандидата: терапевтический эффект или селективность ингибирования мишени? И можно ли добиться противоопухолевого эффекта при инактивации одной мишени? Можно ли быть уверенным, что знание структуры мишени, ее ингибитора и закономерностей их комплексобразования в бесклеточных системах обеспечивает (или предполагает?) понимание механизма действия в клетках и тем более в организме?

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ  
(грант № 24-15-00097) с ИБХ РАН.

## Различное влияние 20-гидроксиэкдизона (20E) на энергетический метаболизм в клеточных моделях аденокарциномы и нормальных 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

**Введение.** 20-гидроксиэкдизон (экдистерон, 20E) — стероидный гормон членистоногих. У млекопитающих, включая человека, данное соединение не обладает рядом полезных, фармакологических свойств: анаболическим, антиоксидантным, гипогликемическим, кардио- и нейропротекторным и др. Ранее мы и другие исследователи обнаружили у данного вещества потенциальные противоопухолевые свойства. При этом 20E, в первую очередь, известен благодаря своим анаболическим свойствам в мышечных тканях. Поэтому мы решили изучить влияние 20E на энергетический метаболизм в опухолевых и нормальных клетках и прояснить молекулярные механизмы, лежащие в основе его фармакологических свойств.

**Цель исследования** — сравнить влияние 20E на энергетический метаболизм в опухолевых и мышечных клеточных моделях

**Материалы и методы.** Эксперименты проводили на клеточных моделях карциномы легкого человека, а также миобластах и фибробластах мыши. Для оценки влияния 20E на экспрессию генов использован транскриптомный анализ. Для оценки количества и активности ряда метаболических ферментов и уровня АТФ использованы ПЦР-РВ, иммуноблоттинг и соответствующие коммерческие тест-наборы. Оценку влияния 20E на интенсивность гликолиза и дыхания проводили с использованием технологии SeaHorse. Для оценки противоопухолевых свойств 20E *in vivo* использована сингенная мышиная модель — мыши C57Bl, несущие меланому B16.

**Результаты.** Мы показали, что 20E ингибировал энергетический метаболизм в опухолевых клетках. В то же время он значительно повышал гликолиз, дыхание, C1-метаболизм и биосинтез белка в миобластах и фибробластах. Данные эффекты не зависели от рецептора MAS1, однако были зависимы от PI3K/AKT/mTOR-сигнального пути. При этом в экспериментах *in vivo* 20E значительно повысил продолжительность жизни мышей линии C57Bl, несущих меланому B16F10, в условиях монотерапии.

**Заключение.** 20E ингибирует энергетический метаболизм в клеточных моделях опухолей легкого и проявляет противоопухолевые свойства *in vivo*. При этом 20E-зависимая активация энергетического метаболизма в миобластах и фибробластах может являться ос-

новной причиной хорошо известной анаболической активности 20E.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ  
(грант № 24-45-04002).*

## Персонализированный подход к прогнозу эффективности существующих и разработке новых иммунотерапевтических агентов на основе метаболического имиджинга биоматериала от пациентов

Д.В. Южакова<sup>1</sup>, А.В. Изосимова<sup>1</sup>, Д.С. Сачкова<sup>1,2</sup>,  
И.С. Шумская<sup>1,3</sup>, С.В. Гамаюнов<sup>3</sup>, К.С. Яшин<sup>1</sup>,  
Г.М. Юсубалиева<sup>4</sup>, В.П. Баклаушев<sup>4</sup>, А.М. Можеров<sup>1</sup>,  
В.В. Елагин<sup>1</sup>, В.В. Дуденкова<sup>1</sup>, В.И. Щеславский<sup>1</sup>,  
М.В. Ширманова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Нижний Новгород;

<sup>2</sup>ФГАО ВО «Национальный исследовательский  
Нижегородский государственный университет  
им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород;

<sup>3</sup>ГАОУ НО НИИКО «Нижегородский областной клинический  
онкологический диспансер», Нижний Новгород;

<sup>4</sup>ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр  
специализированных видов медицинской помощи  
и медицинских технологий ФМБА России», Москва  
e-mail: yuzhakova-diana@mail.ru

**Введение.** В эпоху персонализированной медицины необходимо выявлять отдельных онкологических пациентов, которые получают максимальную пользу от лечения. Одним из подходов к составлению индивидуального прогноза является изучение функциональных свойств клеток из биоматериала от пациента. Однако для этого требуются надежные инструментальные методы.

**Цель исследования** — изучить возможности флуоресцентной времязазрешенной микроскопии (FLIM) метаболического кофермента никотинамидадениндинуклеотида (фосфата) (НАД(Ф)Н), высокочувствительного label-free метода для оценки реакции клеток из биоматериала на лечение.

**Материалы и методы.** Автофлуоресценцию НАД(Ф)Н визуализировали с помощью флуоресцентного конфокального микроскопа LSM 880 (Carl Zeiss, Германия) с FLIM-модулем TCSPC (Becker & Hickl GmbH, Германия).

**Результаты.** Первый блок работ посвящен исследованию возможностей метаболического имиджинга иммунных клеток для прогноза ответа индивидуальных пациентов с агрессивными опухолями поздних стадий — меланомы и глиомы — на один из ведущих методов иммунотерапии — чекпойнт-ингибиторы. Первой задачей было изучить «базовый» профиль автофлуоресценции НАД(Ф)Н в свежевыведенных из крови лим-

фоцитах пациентов еще до начала лечения. Второй задачей была разработка технологии оценки ответа лимфоцитов в *in vitro* модели на воздействие чекпойнт-ингибиторов. В обоих случаях установлены конкретные параметры автофлуоресценции НАД (Ф) Н — вклады свободной формы a1 (ассоциированной с гликолизом, активацией и продукцией цитокинов) и связанной НАД(Ф)Н формы a3 (с пролиферацией и биосинтезом), а также время жизни флуоресценции связанной формы t2 (с изменением ферментативного профиля), высокие значения которых наблюдались у индивидов, впоследствии отвечающих на терапию, в то время как низкие — у нереспондеров.

Второй блок работ посвящен тестированию эффективности новых агентов для виро- и клеточной терапии на оригинальной модели 3D сфероид глиобластомы пациента. Продемонстрирована эффективность нового онколитического вируса осповакцины, кодирующего гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, а также «усиленных» NK- и CAR-NK-EGFRvIII-клеток. Показан сдвиг к более окислительному метаболизму опухолевых клеток (рост НАДН a2), что связано со снижением пролиферации и положительным ответом на терапию.

**Заключение.** FLIM НАД(Ф)Н может стать мощным инструментом для персонализированной терапии.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ  
(грант № 23-74-10109).*

## Изучение фармакокинетики <sup>211</sup>At

О.А. Юминов<sup>1</sup>, Д.А. Бондаренко<sup>2</sup>, В.А. Дроздов<sup>1</sup>,  
Д.О. Еременко<sup>1,3</sup>, А.Н. Мурашев<sup>2</sup>, С.Ю. Платонов<sup>1,3</sup>,  
О.В. Фотина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИЯФ им. Д.В. Скобелкина ФГБОУ ВО «МГУ  
им. М.В. Ломоносова», Москва;

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт биоорганической химии  
им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН», Пушкино;

<sup>3</sup>физический факультет  
ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», Москва  
e-mail: vadim\_drozдов@mail.ru

**Введение.** Радиофармацевтический препарат (РФП) <sup>211</sup>At является перспективным кандидатом для замены применяемых в настоящее время в радионуклидной йодтерапии РФП на основе <sup>131</sup>I. В отличие от бета-радиоактивного изотопа <sup>131</sup>I, являющегося также источником достаточно высокоэнергетического гамма-излучения (длины поглощения гамма-квантов с энергией в несколько сотен кэВ в тканях организма достигают нескольких сантиметров) и имеющего период полураспада 8,04 сут, изотоп <sup>211</sup>At обладает значительно меньшим периодом полураспада — 7,24 ч и является источником альфа-частиц, имеющих длину пробега в тканях в несколько клеточных диаметров.

Эти свойства изотопа  $^{211}\text{At}$  позволяют достичь аналогичного радиойодтерапии эффекта воздействия введением примерно в 20 раз меньшей активности и существенно снизить радиационную нагрузку на организм пациента за счет высокой селективности и относительной кратковременности воздействия.

**Цель исследования** — изучить накопление радионуклида  $^{211}\text{At}$  в щитовидной железе.

**Материалы и методы.** Изотоп  $^{211}\text{At}$  нарабатывался на циклотроне НИИЯФ МГУ в реакции  $^{209}\text{Bi}(\alpha, 2n)^{211}\text{At}$ . РФП  $^{211}\text{At}$  синтезировался путем возгонки  $^{211}\text{At}$  из висмутовой мишени при температуре 800 °С в изотонический физиологический раствор. Измерение радиохимической чистоты полученного РФП производилось методом гамма-спектроскопии с помощью HpGe детектора (энергетическое разрешение 1,5 КэВ при энергии 661,7 КэВ ( $^{137}\text{Cs}$ )).

Фармакокинетика исследовалась на самцах крыс SD (Sprague Dawley). Для исследования фармакокинетики тестируемый РФП вводили животным 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 гамма-спектрометра. Для каждой временной точки использовалось 6 животных.

**Заключение.** Обнаружено, что концентрация  $^{211}\text{At}$  максимальна в щитовидной железе.

## Вторичные метаболиты морских грибов с противоопухолевой активностью

Е.А. Юрченко, Е.А. Менчинская, Е.С. Чингизова,  
А.Н. Юрченко

ФГБУН «Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения РАН»,  
Владивосток  
e-mail: eyurch@piboc.dvo.ru

**Цель исследования** — изучение противоопухолевого потенциала вторичных метаболитов морских грибов.

**Материалы и методы.** В работе были использованы низкомолекулярные соединения, выделенные из морских грибов коллекции морских микроорганизмов ТИБОХ ДВО РАН (Владивосток).

**Результаты.** Антрахинон висмион Е из морского гриба *Aspergillus* sp. 1901NT-1.2.2 показал цитотоксическую активность в отношении клеток РМЖ MCF-7 с IC50 9,0 мкМ, но был слабо токсичен для нормальных клеток линии MCF-10A с IC50 — 65,3 мкМ. Висмион Е ингибировал пролиферацию клеток MCF-7, тормозил клеточный цикл в G1-фазе и тормозил их миграцию. Сделано предположение, что мишенью этого соединения является фермент IMPDH2.

Дримановые сесквитерпены асперфлавиноид С и устусолат Е, выделенные из совместной культуры грибов *Amphichorda guana* КММ 4639 и *Aspergillus carneus* КММ 4638 также ингибировали жизнеспособность клеток MCF-7 с IC50 10 мкМ. Эти соединения тормозили клеточный цикл в фазе G2/М и вызывали каспазозависимый апоптоз этих клеток. При этом токсичность данных соединений для кардиомицитов линии H9c2 была значительно менее выраженной.

Декалиновый поликетид 1-ацетилпаллидопениллин из морского гриба *Penicillium yezoense* КММ 4679 обладал умеренным цитотоксическим действием в отношении клеток MCF-7, однако ингибировал образование ими колоний с IC50 0,66 мкМ. Эффект значительно снижался, когда клетки MCF-7 были предварительно ингибированы с 4-гидрокситамоксифеном. Это позволило предположить, что рецепторы эстрогена (ERs) могут быть одной из мишеней для этого соединения.

Бисиндолбензохинон петромуриин С из морского гриба *Aspergillus subramaniani* 1901NT-1.40.2 обладал более выраженной цитотоксической активностью в отношении клеток MCF-7, чем в отношении кератиноцитов линии HaCaT. Результаты молекулярного докинга с ERs позволили предположить, что это соединение может предотвращать димеризацию ERβ.

**Заключение.** Таким образом, ряд низкомолекулярных вторичных метаболитов морских грибов являются перспективными противоопухолевыми соединениями.

## Комплексный подход к оценке антиангиогенной и противоопухолевой активности мультивалентного гибридного белка, специфичного к рецепторам VEGFR2, NRP-1 и DR5

А.В. Яголович<sup>1,2</sup>, И.Н. Дружкова<sup>3</sup>, А.Г. Орлова<sup>4</sup>,  
А.А. Курников<sup>4</sup>, П.В. Субочев<sup>4</sup>, А.М. Князева<sup>2</sup>,  
А.В. Авакянц<sup>2</sup>, А.К. Шайтан<sup>2</sup>, Е.А. Плотникова<sup>5</sup>,  
Г.В. Трунова<sup>5</sup>, А.А. Панкратов<sup>5</sup>, А.А. Исакова<sup>1,2</sup>,  
Е.В. Куковьякина<sup>1</sup>, Д.А. Долгих<sup>1,2</sup>, М.Э. Гаспарян<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН», Москва;

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

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Нижний Новгород;

<sup>4</sup>ФИЦ Институт прикладной физики им. А.В. Гапонова-Грехова РАН, Нижний Новгород;

<sup>5</sup>МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва  
e-mail: yagolovichav@my.msu.ru

**Введение.** Известно, что неоангиогенез способствует быстрому росту опухоли. Антиангиогенные препараты широкого применяются для лечения солидных васкуляризованных опухолей. Ранее было показано, что одновременное нацеливание на сигнальные пути

ангиогенеза и апоптоза с помощью мультивалентного гибридного белка на основе DR5-специфичного варианта TRAIL с пептидами SRH и iRGD подавляет рост опухолевых ксенотрансплантатов *in vivo*.

**Цель исследования** — оценка вклада антиангиогенной активности гибридного белка SRH-DR5-B-iRGD в его общий противоопухолевый эффект с применением комплексного подхода.

**Материалы и методы.** Механизм взаимодействия гибридного белка SRH-DR5-B-iRGD с рецепторами-мишенями был исследован с помощью молекулярного моделирования. Антиангиогенное действие *in vitro* оценивалось на линии эндотелиальных клеток пупочной вены человека (HUVEC). Противоопухолевое действие *in vivo* было исследовано на ксенотрансплантатных моделях глиобластомы и рака поджелудочной железы человека в иммунодефицитных мышах. Визуализация опухолевой сосудистой сети проводилась методами оптоакустической ангиографии и оптической когерентной томографии-микроангиографии (ОКТ-МА). Также, васкуляризация опухолевых узлов была исследована с помощью ИГХ-окраски на маркер CD31.

**Результаты.** Молекулярное моделирование показало, что пептиды SRH и iRGD в составе гибридного белка SRH-DR5-B-iRGD не только задействуют до-

полнительные опухолевые мишени VEGFR2 и NRP-1, но и усиливают активацию рецептора смерти DR5. Было показано, что SRH-DR5-B-iRGD ингибирует VEGF-индуцированную пролиферацию HUVEC *in vitro*. Комплексное исследование васкуляризации опухолевых узлов методами оптоакустической ангиографии, ОКТ-МА и ИГХ показало согласованные результаты: наблюдалось снижение плотности сосудистой сети под действием гибридного белка SRH-DR5-B-iRGD по сравнению с DR5-B. Также наблюдалась положительная корреляция между плотностью сосудистой сети, измеренной разными методами, и размерами опухолей на обеих моделях глиобластомы и рака поджелудочной железы.

**Заключение.** Комплексный подход к исследованию свойств гибридного белка SRH-DR5-B-iRGD показал, что генетическое слияние DR5-специфичного TRAIL DR5-B с пептидами SRH и iRGD привело к усилению антиангиогенной активности, которая положительно повлияла на общий противоопухолевый эффект. Таким образом, белок SRH-DR5-B-iRGD является перспективным кандидатом для лечения солидных васкуляризированных опухолей.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 24-14-00250).*



## Секция V

# Внеклеточные везикулы в диагностике и терапии злокачественных новообразований

## Оценка представленности и диагностического потенциала микроРНК экзосом плазмы крови больных раком яичника

Е. И. Джугашвили<sup>1</sup>, Н. В. Юнусова<sup>2</sup>, Л. А. Коломиец<sup>2</sup>,  
С. Н. Тамкович<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск;

<sup>2</sup>НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск;

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск  
e-mail: e.dzhugashvili@g.nsu.ru

**Введение.** Среди опухолей женской репродуктивной системы РЯ характеризуется наибольшей смертностью. Асцит формируется уже на ранних стадиях заболевания и играет роль опухолевого микроокружения. Интерес исследователей вызывают циркулирующие в биологических жидкостях экзосомы, содержащие биомолекулы родительской клетки, которые можно использовать в качестве маркеров для диагностики РЯ методом жидкостной биопсии.

**Цель исследования** — сравнительная оценка относительных уровней miR-24 и miR-101 в экзосомах, секретируемых клеточными линиями, и в экзосомах плазмы крови первичных больных РЯ и здоровых женщин.

**Материалы и методы.** В ходе исследования были получены и охарактеризованы экзосомы из кондиционных сред первичных (HUVES) клеток и клеток, имитирующих РЯ (SKOV3), из плазмы крови больных РЯ ( $n = 20$ ) и здоровых женщин ( $n = 46$ ). После выделения экзосомальной РНК определяли относительный уровень микроРНК с использованием ОТ-ПЦР-РВ. Полученные данные 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 статистически значимыми при значениях  $p \leq 0,05$ .

**Результаты.** Концентрация экзосом в плазме крови онкологических больных статистически значимо выше, чем у здоровых женщин, а в кондиционной среде линии SKOV3 — выше, чем в среде клеток HUVES. Вы-

явлено статистически значимое повышение уровней miR-24 и miR-101 экзосом кондиционной среды линии SKOV3 по сравнению с HUVES, что указывает на минимальный вклад эндотелия сосудов в пул экзосом у больных РЯ. В группе здоровых выделены подгруппы сравнения в зависимости от клинико-демографических характеристик. Не выявлено статистически значимых различий в уровнях miR-24 и miR-101 экзосом плазмы крови в данных подгруппах. Выявлено статистически значимое понижение относительных уровней экзосомальных miR-24 и miR-101 в плазме крови пациенток с РЯ по сравнению со здоровыми женщинами. Построена логистическая модель для предсказания риска развития РЯ, включающая относительные уровни miR-24 и miR-101 и наличие наследственной предрасположенности к его развитию, которая обладает чувствительностью 87 % и специфичностью 79 %.

**Заключение.** Полученные результаты подтверждают перспективность использования экзосомальных miR-24 и miR-101 в диагностике и прогнозе риска развития РЯ в широкой популяции женщин.

## Матриксные металлопротеиназы экзосом в крови больных раком молочной железы: связь с метаболическим статусом

И. А. Рекеда<sup>1</sup>, Н. В. Юнусова<sup>2</sup>, И. В. Кондакова<sup>2</sup>,  
С. Н. Тамкович<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Новосибирский областной клинический онкологический диспансер, Новосибирск;

<sup>2</sup>НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск;

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск;

<sup>4</sup>ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск  
e-mail: 9139039526@mail.ru

**Введение.** Известно, что у многих пациентов с РМЖ опухоль возникает на фоне метаболически здорового ожирения или метаболического синдрома. Адипоциты продуцируют матриксные металлопротеиназы (MMPs) MMP2, MMP9 и их ингибитор TIMP1. Полученные из жировой ткани MMPs играют значительную роль

в адипогенезе, ангиогенезе и ремоделировании внеклеточного матрикса, что может ускорить метастатический каскад.

**Цель исследования** — изучение уровня MMPs на CD9-позитивных экзосомах в крови больных РМЖ во взаимосвязи с метаболическим статусом.

**Материалы и методы.** Экзосомы из плазмы и цельной крови больных РМЖ ( $n = 46$ ) и здоровых женщин ( $n = 23$ ) выделяли методом ультрафильтрации с последующим ультрацентрифугированием. Природу полученных экзосом подтверждали с помощью трансмиссионной электронной микроскопии, криомикроскопии, проточной цитофлуориметрии, трекового анализа. Уровни MMPs и TIMP1 на поверхности CD9-позитивных экзосом были изучены с помощью проточной цитофлуориметрии.

**Результаты.** При помощи проточной цитофлуориметрии показано, что наиболее представленной субпопуляцией CD9-позитивных экзосом крови как в норме, так и при РМЖ является MMP2+MMP9–TIMP1–. Сравнительный анализ субпопуляций выявил достоверное увеличение уровней CD9+MMP2+ и CD9+MMP2+MMP9+TIMP1– экзосом в плазме и в суммарной крови больных люминальным В подтипом РМЖ по сравнению со здоровыми женщинами ( $p < 0,05$ ). Кроме того, уровень MMP2+ был достоверно повышен у больных РМЖ с метаболическим синдромом как в плазме ( $p = 0,066$ ), так и в суммарной крови ( $p = 0,039$ ) по сравнению со здоровыми женщинами.

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о вовлечении ассоциированных с ФЭК экзосом, несущих на своей поверхности шеддазы MMP2 и MMP9, в диссеминацию РМЖ и дополнительный вклад MMP2 в ремоделирование внеклеточного матрикса при метаболическом синдроме.

## Матриксные протеиназы на внеклеточных везикулах больных раком желудка, связь с метаболическим статусом

Л.В. Спирина<sup>1,2</sup>, А.В. Августинович<sup>2</sup>, А.А. Баркышева<sup>1</sup>,  
В.А. Богданова<sup>1</sup>, С.Г. Афанасьев<sup>1</sup>, Д.А. Сваровский<sup>1,2</sup>,  
Н.В. Юнусова<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», Томск  
e-mail: spirinalvl@mail.ru

**Введение.** Метаболические нарушения часто сопровождают развитие онкологических заболеваний человека.

**Цель исследования** — изучение уровня MMPs на CD63 и FABP4-позитивных экзосомах плазмы крови у пациентов с РЖ во взаимосвязи с метаболическим статусом.

**Материалы и методы.** В исследование вошли 18 больных РЖ, получавших лечение в клиниках НИИ онкологии Томского НИМЦ. Экзосомы плазмы крови выделяли с помощью ультрафильтрации с ультрацентрифугированием. Типирование экзосом проводили с помощью FITC-конъюгированными антителами против тетраспанинов (CD63, FABP4, TIMP1, MMP2 и MMP9). Концентрацию глюкозы и триацилглицеридов сыворотки крови определяли унифицированными методами исследования с помощью наборов Вектор Бест (Россия). Содержание инсулина оценивали при помощи наборов для ИФА «Вектор Бест» (Россия).

**Результаты.** У пациентов с диссеминированным РЖ отмечено увеличение количества MMP9 экзосом адипоцитарного происхождения в 1,5 раза по сравнению с пациентами с локализованным раком. При этом количество MMP9+2+TIMP+ экзосом было снижено в 1,3 раза. Кроме того, отмечен рост концентрации глюкозы и триацилглицеридов крови с распространенностью заболевания.

У больных РЖ с индексом массы тела (ИМТ)  $> 30$  кг/м<sup>2</sup> отмечено снижение общего пула экзосом, содержащих MMP2, TIMP1, MMP2+9–TIMP+, MMP9+2+TIMP– и MMP9+2–TIMP+ (в 1,5; 2,6; 1,3; 1,4 и 2,1 раза соответственно) по сравнению с больными с повышенным питанием. При этом количество экзосом общего пула MMP2+9+TIMP– было повышено с увеличением ИМТ в 1,3 раза. Также отмечается снижение количества экзосом адипоцитарного происхождения MMP2, TIMP1 и MMP9+2+TIMP+ в 1,5; 1,6 и 1,7 раза у пациентов с ИМТ  $> 30$  кг/м<sup>2</sup> по сравнению с больными с ИМТ  $< 30$  кг/м<sup>2</sup> (повышенное питание). Стоит отметить, что содержание инсулина, концентрация глюкозы и триглицеридов повышались в 1,23; 1,19 и 1,4 раза соответственно в группах больных с ИМТ  $> 30$  кг/м<sup>2</sup> по сравнению с пациентами с повышенным питанием (ИМТ от 25 до 30 кг/м<sup>2</sup>).

Следовательно, метаболические нарушения были ассоциированы с ростом количества MMP9 экзосом крови у пациентов с увеличением распространенности заболевания. Стоит отметить повышение количества адипоцитарных экзосом с MMP2+9+TIMP– фенотипом у больных с ожирением на фоне ожирения. Вероятно, метаболические изменения у больных РЖ могут быть связаны с ростом экзосом с MMP2 и MMP9 как общих, так и адипоцитарных, что является существенным для механизмов опухолевой прогрессии.

**Заключение.** Отмечен рост общего пула MMP9 экзосом крови при развитии диссеминированной формы заболевания, ассоциированный с гипергликемией и гипертриглицеридемией. При этом наиболее значимые изменения были обнаружены для пациентов

с ожирением, где количество MMP2+9+TIMP— адипоцитарных экзосом повышалось.

## Изменение белкового груза экзосом при гиперэкспрессии рибосомного белка RPS3 в клетках карциномы молочной железы

С.Н. Тамкович<sup>1,2</sup>, А.А. Шефер<sup>1</sup>, Е.С. Бабайлова<sup>1</sup>,  
А.А. Малыгин<sup>1</sup>, Д.М. Грайфер<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск  
e-mail: s.tamkovich@g.nsu.ru

**Введение.** Понимание молекулярных механизмов, лежащих в основе канцерогенеза, имеет фундаментальное значение для диагностики и терапии рака. Гены многих рибосомных белков гиперэкспрессируются в опухолевых клетках; в частности RPS3 вовлечен в канцерогенез и усиливает устойчивость опухолей к противораковым агентам. Вероятно, перенос рибосомных белков в составе экзосом является одним из механизмов, регулирующих уровни этих белков как в нормальных, так и в опухолевых клетках.

**Цель исследования** — проверка гипотезы: влияет ли гиперэкспрессия RPS3 в клетке на протеомный груз экзосом.

**Материалы и методы.** Клетки карциномы молочной железы BT-549 трансфицировали плазмидой, продуцирующей FLAG-меченый RPS3. Секретируемые клетками экзосомы были получены из исходных и трансфицированных плазмидой клеток и охарактеризованы трансмиссионной электронной микроскопией и вестерн-блоттингом. Анализ мажорных белков экзосом проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии.

**Результаты.** Показано, что по морфологии, размеру и наличию поверхностных тетраспанинов CD9 и CD63 экзосомы, секретируемые контрольными и трансфицированными клетками линии BT-549, не отличаются. Протеомный анализ экзосом, секретируемых контрольными клетками карциномы молочной железы и клетками, продуцирующими FLAG-меченый RPS3, выявил одинаковый набор мажорных белков, включая типичные маркеры экзосом. В то же время набор рибосомных белков в экзосомах из клеток, продуцирующих FLAG-RPS3, резко отличается от тех, что были получены из контрольных клеток. Более того, эти наборы даже не пересекаются, и, что самое неожиданное, RPS3 не был обнаружен ни в одном из них.

**Заключение.** Отсутствие RPS3 в молекулярном грузе экзосом позволяет предположить, что данный белок взаимодействует с компонентами комплексов ESCRT, ответственных за упаковку биомолекул в экзосомы. Гиперэкспрес-

сия RPS3 способствует упаковке определенных рибосомных белков в экзосомы, при этом RPS3 не упаковывается.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 23-24-00159).*

## Сравнительный протеомный анализ экзосом первичных эндотелиоцитов условно здоровых женщин и больных раком молочной железы

А.А. Шефер<sup>1-3</sup>, Л.В. Яньшолё<sup>4</sup>, Т.А. Штам<sup>5</sup>,  
Ю.П. Центалович<sup>4</sup>, С.Н. Тамкович<sup>1-3</sup>

<sup>1</sup>Факультет естественных наук ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск;

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», Новосибирск;

<sup>3</sup>факультет медицины и психологии В. Зельмана ИММТ ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск;

<sup>4</sup>ФГБУН «Институт «Международный томографический центр» СО РАН», Новосибирск;

<sup>5</sup>ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина

e-mail: a.shefer@g.nsu.ru

**Введение.** РМЖ является самым распространенным новообразованием среди женщин. Перспективным источником маркеров для выявления заболеваний жидкостной биопсией являются экзосомы — ВВ диаметром 30–150 нм, несущие тетраспанины CD9, CD63 и CD81. Экзосомы секретируются всеми типами клеток, а их состав отражает состав родительских клеток. Для выявления новых биомаркеров в составе экзосом необходимо оценить вклад экзосом клеток эндотелия в общий пул циркулирующих в крови экзосом.

**Цель исследования** — оценка вклада белков экзосом эндотелиальных клеток в общий белковый профиль экзосом крови.

**Материалы и методы.** Для идентификации опухолеассоциированных белков были получены экзосомы крови от 18 условно здоровых женщин и 17 больных РМЖ, а также экзосомы 3 линий первичных эндотелиоцитов пупочной вены человека HUVEC. Экзосомы были охарактеризованы трансмиссионной электронной микроскопией, трековым анализом и проточной цитофлуориметрией. Анализ мажорных белков экзосом проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии.

**Результаты.** В экзосомах крови здоровых женщин и больных РМЖ обнаружено 111 и 146 белков соответственно, в экзосомах первичных эндотелиоцитов — 52 белка. Обнаружены значительные различия как в составе экзосом крови условно здоровых женщин и больных РМЖ, так и между экзосомами крови и экзосомами, секретируемыми клетками HUVEC. Также показана

низкая гетерогенность белкового профиля в экзосомах, секретируемых первичными эндотелиоцитами.

**Заключение.** Показаны значительные различия в белковом составе экзосом крови условно здоровых женщин, больных РМЖ и первичных эндотелиоцитов. Установлен низкий вклад белков экзосом эндотелиоцитов в общий пул белков циркулирующих в крови экзосом. Показано, 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 сортинг белков в экзосомы. Показана возможность использования экзосом крови для жидкостной биопсии РМЖ.

### Активация противоопухолевого иммунитета на основе шаперона Hsp70, введенного в состав растительных везикул

Т.А. Штам<sup>1,2</sup>, Л.А. Гараева<sup>1</sup>, Е.Ю. Комарова<sup>2</sup>,  
С.С. Емельянова<sup>1</sup>, Е.Д. Путевич<sup>1</sup>, А.Л. Коневега<sup>1</sup>,  
Б.А. Маргулис<sup>2</sup>, И.В. Гужова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики  
им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт»,  
Гатчина;

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург  
e-mail: shtam\_ta@pnpi.nrcki.ru

**Введение.** Растительные везикулы — наноразмерные частицы, которые все чаще рассматриваются в качестве доставщиков терапевтических биомолекул, в том числе для лечения опухолевых заболеваний. Одним из перспективных методов терапии ЗНО является активация противоопухолевого иммунитета на основе шаперона Hsp70, который при доставке в опухолевые клетки способен спровоцировать активацию врожденного и адаптивного иммунных ответов. Эффективная доставка Hsp70 к опухолевым клеткам потенциально могла бы быть осуществлена при помощи растительных везикул.

**Цель исследования** — апробация растительных везикул, выделенных из плодов грейпфрута, для доставки экзогенного функционально активного Hsp70 к опухолевым клеткам *in vitro* и *in vivo* с целью активации противоопухолевого иммунного ответа.

**Материалы и методы.** Апробацию потенциала экстраклеточных везикул грейпфрута (GEVs) для доставки терапевтического белка проводили на двух моделях опухолей СТ-26 (аденокарцинома кишечника мыши) и В16 (меланома мыши).

В экспериментах *in vitro* было показано, что экзогенный Hsp70 в свободной форме и в составе GEVs увеличивает чувствительность клеток СТ-26 и В16 к цитотоксическим лимфоцитам и NK. Для проверки

активации противоопухолевого ответа *in vivo* использовали два способа воздействия рекомбинантного Hsp70 в составе GEVs на прогрессию опухолей. Так, для формирования опухолевого узла клетки СТ-26 прививали подкожно мышам BALB/с совместно с GEVs, предварительно нагруженными белком Hsp70. Для формирования модели меланомы клетки В16 были привиты подкожно мышам BALB/с, и спустя 5 дней после инъекции опухолевое новообразование наружно обрабатывали гидрогелем с нагруженными белком Hsp70 GEVs каждые 3 дня.

**Результаты.** Для целевой группы мышей с привитыми клетками СТ-26 были показаны увеличение продолжительности жизни животных и уменьшение размера опухоли в 3 раза, а также снижение уровня факторов TGFβ1, IL-10 в плазме крови по сравнению с группами контроля. Для модели меланомы В16 были показаны уменьшение массы опухолевого новообразования в 20 раз и значительное увеличение продолжительности жизни для данной группы животных относительно групп сравнения. Как для опухолей СТ-26, так и В16 была продемонстрирована вовлеченность CD8+Т-лимфоцитов в наблюдаемые на животных моделях противоопухолевые эффекты.

**Заключение.** На основе полученных данных можно заключить, что GEVs, нагруженные Hsp70, способствуют активации противоопухолевого иммунитета *in vivo*.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ  
(грант № 19-74-20146-н).

### Концентрация, состав и экспрессионные характеристики циркулирующих адипоцитарных везикул у больных с полипами толстой кишки и колоректальным раком

Н.В. Юнусова<sup>1,2</sup>, Д.А. Сваровский<sup>1,2</sup>, Е.С. Колегова<sup>2</sup>,  
О.В. Черемисина<sup>2</sup>, Д.Н. Костромицкий<sup>2</sup>, И.В. Кондакова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Кафедра биохимии и молекулярной биологии с курсом  
клинической лабораторной диагностики  
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский  
университет» Минздрава России, Томск;

<sup>2</sup>НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный  
исследовательский медицинский центр РАН», Томск  
e-mail: Bochkarevany@oncology.tomsk.ru

**Введение.** ВВ представляют собой гетерогенную популяцию мембранных частиц размером менее 1 мкм, секретируемую различными типами клеток. Большинство циркулирующих в крови человека ВВ являются частицами тромбоцитарного, лейкоцитарного, эритроцитарного и эндотелиального происхождения, а адипоцитарные ВВ составляют менее 1 %.



**Цель исследования** — изучение циркулирующих адипоцитарных ВВ при различных патологических состояниях.

**Материалы и методы.** Малые ВВ из плазмы крови пациентов с КРР и полипами толстой кишки с наличием ожирения или метаболического синдрома выделены методом ультрафильтрации с двойным ультрацентрифугированием. Для изучения состава адипоцитарных ВВ использовали иммунопреципитацию в сочетании с вестерн-блоттингом и проточную цитометрию. Чувствительность и специфичность кандидатных везикулярных маркеров для прогнозирования онкологического риска у больных с полипами толстой кишки определяли методом ROC-анализа.

**Результаты.** Фракции везикул (FABP4- и CD11b-иммунопреципитированные ВВ, а также ВВ, содержащиеся в супернатанте после удаления CD11b-позитивных ВВ) содержали комплекс адипоцитарных маркеров (FABP4, PPAR- $\gamma$  и перилипин 1). Преципитированные на CD11b-покрытых частицах ВВ моноцитарно-макрофагального происхождения у больных КРР без ожирения характеризовались сочетанной гиперэкспрессией

FABP4 и перилипина 1, в то время как для больных КРР с метаболическим синдромом или ожирением такая гиперэкспрессия была нехарактерна.

**Закключение.** Фракция истинно адипоцитарных везикул (супернатант после удаления CD11b-позитивных ВВ) характеризовалась наличием у всех больных комплекса адипоцитарных маркеров с преимущественной экспрессией в ней FABP4 как у больных с метаболическим синдромом/метаболически здоровым ожирением, так и у больных без метаболических нарушений, имеющих нормальную массу тела. Проведенный ROC-анализ выявил 6 субпопуляций ВВ, способных прогнозировать онкологический риск у пациентов с полипами толстой кишки, из них 3 CD9-позитивных субпопуляции (CD9+HSP60+, CD9+MMP2+, CD9+MMP2+MMP9+TIMP1+) и 3 FABP4-позитивных субпопуляции (FABP4+HSP60+, FABP4+HSP60+HSP27+HSP90— и FABP4+MMP2+MMP9+TIMP1—).

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант № 23-25-00085).*