

Результаты. В 22 наблюдениях иммуноцитохимически определялась гиперэкспрессия антител HER-2/neu (+++), в 46 – реакция расценена как умеренно выраженная (++) , в 27 – ИЦХ реакция была слабой интенсивности (+) и в 50 – экспрессия отсутствовала (0). При проведении FISH-реакции во всех наблюдениях гиперэкспрессии HER-2/neu (+++) обнаружена амплификация гена HER-2/neu, при отрицательной и слабо положительной экспрессией антител амплификация не выявлена. В группе умеренно

выраженной экспрессии (++) амплификация обнаружена в 21 из 46 опухолей.

Заключение. Таким образом, исследование показало возможность выполнения FISH-метода для определения амплификации гена HER-2/neu на цитологических препаратах до начала какого-либо лечения и необходимость ее проведения при умеренно выраженной (++) иммуноцитохимической экспрессии HER-2/neu.

NEXAPROOF: ВОСЬМИГЕННАЯ ЭКСПРЕССИОННАЯ «ПОДПИСЬ» ПРЕДСКАЗЫВАЕТ ОТВЕТ НА СОРАФЕНИБ У ПАЦИЕНТОВ С РАКОМ ПОЧКИ

Сунцова М.В.¹, Сорокин М.И.², Анисенко А.Н.¹, Широкоград В.И.³, Кашинцев К.Ю.³, Соков Д.Г.⁴, Румянцев С.А.⁵, Ткачев В.С.¹, Борисов Н.М.¹, Буздин А.А.², Гаража А.В.¹

¹ Центр биогеронтологии и регенеративной медицины, Москва, Россия

² Первый онкологический научно-консультационный центр, Москва, Россия

³ Московская городская онкологическая больница № 62, Москва, Россия

⁴ Онкологический клинический диспансер № 1 города Москвы, Москва, Россия

⁵ Российский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

Введение. Таргетный противоопухолевый препарат *сорафениб* (*нексавар*) подавляет молекулярные мишени - тирозинкиназные белки с высоким онкогенным потенциалом, такие, как FGFR1, KDR, RET и другие. Препарат стандартно применяется при опухолях почки, печени, щитовидной железы, а также при многих других нозологиях используется как экспериментальная терапия. Глобальный рынок препарата растет и составляет более миллиарда долларов в год. Препарат является дорогостоящим и обладает серьезными побочными эффектами. На сегодня, не существует способов персонализации назначения сорафениба пациентам. Более чем в половине случаев, это приводит к неэффективному назначению препарата, что конвертируется в потерю времени, денег и развитие побочных эффектов без выраженного противоопухолевого действия. Поэтому решение проблемы персонализации назначения сорафениба является чрезвычайно важным с медицинской, социальной и экономической точек зрения. Для решения этой проблемы, мы предложили подход, основанный на анализе активации внутриклеточных сигнальных путей как маркеров при назначении сорафениба. На основании одного из маркерных сигнальных путей, была создана характеристическая восьмигенная «подпись», с высокой достоверностью предсказывающая ответ больного раком почки на таргетную терапию сорафенибом.

Цель и задачи. Для предсказания успешности таргетной терапии онкозаболеваний препаратом сорафениб, была поставлена цель создать молекулярно-диагностическую панель, основанную на анализе активации сигнальных путей.

Материалы и методы. Для разработки метода анализа активации сигнальных путей, использованы созданные нами алгоритмы скрининга тотальных профилей генной экспрессии. Алгоритмы были интегрированы с базами данных по молекулярному составу внутриклеточных сигнальных путей, включая функциональную роль каждого генного продукта в пути.

Сигнальные пути регулируют все основные процессы, связанные с клеточным ростом, делением и дифференцировкой, а также с программируемой клеточной гибелью. Каждый сигнальный путь образован десятками или сотнями взаимодействующих друг с другом генных продуктов. В ходе таких взаимодействий, происходит усиление и проведение сигнала, например – от поверхности клетки в ядро. Эффектами активации сигнальных путей могут быть активация транскрипционных факторов и изменение генной экспрессии, изменение структуры цитоскелета и формы клеток, подготовка клетки к делению или к смерти. Все онкозаболевания связаны с неконтролируемым ростом опухолевых клеток, что обусловлено патологически измененной регуляцией десятков сигнальных путей. Каждый такой измененный сигнальный путь выполняет определенную функцию в опухолевой клетке. Например, усиленный путь фактора гипоксии HIF1 инициирует прорастание сосудов и смену метаболических программ опухолевых клеток. Путь рецептора эпидермального фактора роста EGFR отвечает за активацию роста и клеточного деления. Путь, связанный с протеинкиназами АКТ, блокирует апоптоз, увеличивает синтез белка в клетке и усиливает захват глюкозы из кровотока. Каждый путь образован многими взаимодействующими генными продуктами, и если и не каждый такой генный продукт, то многие из них, взятые по отдельности, способны приводить к усилению всего пути. При этом, повышение активности одних компонентов пути может компенсироваться снижением активности других, а понижение уровня активации всего пути требует появления новых аналитических подходов. Мы использовали математический аппарат системы OncoFinder, которая позволяет определять изменения в уровне активации путей по сравнению с контрольной группой. Для проведения исследований, для группы пациентов с раком почки, ответивших (n=10) и не ответивших (n=13) на терапию, было проведено широкомасштабное профилирование генной экспрессии с использованием микрочипирования на

платформах Illumina HT-12v4 и CustomArray. В качестве источника биоматериала, брали фиксированные образцы патологической ткани (парафиновые блоки) пациентов с раком почки, верифицированные гистологическим исследованием.

Основные результаты. Мы создали оригинальную биоматематическую систему для анализа активации внутриклеточных сигнальных путей (Ozerov et al., Nature Communications 2016; Buzdin et al, Front.Genet. 2014). Мы показали, что активация сигнальных путей является более качественным онкомаркером, чем уровни экспрессии отдельных генов (Borisov et al, Oncotarget 2014). На основании полнотранскриптомных профилей опухолевой ткани почек ответчиков и неответчиков на терапию, мы обнаружили ряд маркерных сигнальных путей. Для пути, являющегося наиболее качественным маркером ($AUC=0.92$), нами были выбраны восемь входящих в него наиболее информативных маркерных генных продуктов. Они были объединены в восьмигенную «подпись», для которой, аналогично сигнальным путям, определяли уровень активации. Мы показали, что созданная «подпись» смогла разделить группы ответчиков и неответчиков на терапию сорафенибом с критерием статистической значимости $p=0.011$ (по Вилкоксоу). При этом ни один из входящих в подпись генных продуктов сам по себе не мог

статистически значимо ($p<0.05$) разделять группы ответчиков и неответчиков на терапию. На основе этих данных, нами была создана диагностическая панель, названная NexaProof. Панель включает в себя набор праймеров и реагентов для определения уровней экспрессии генов, формирующих восьмигенную подпись, методом ОТ-ПЦР в реальном времени. В качестве источника биоматериала используются парафиновые блоки патологической ткани. Панель снабжена программным обеспечением и возможностью удаленного обслуживания в Интернете для загрузки данных, получения и анализа результата исследования. Исследование обладает высокой чувствительностью (0.89), специфичностью (0.96), сравнительно невысокой стоимостью и занимает не более 5 рабочих дней. Кроме того, наши предварительные исследования свидетельствуют о том, что панель NexaProof может быть применима и для других нозологий (рак печени, рак головы и шеи и др.)

Заключение. Была разработана диагностическая панель NexaProof, позволяющая быстро и эффективно предсказывать успешность применения терапии препаратом сорафениб (нексавар) для больных раком почки. В будущем, в ходе дополнительных исследований, список клинических показаний диагностической панели может быть расширен.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ SNP rs 662 ПАРАОКСОНАЗЫ 1 (PON1) НА ПОКАЗАТЕЛИ МЕТАБОЛИЗМА ЖЕЛЕЗА И ЛИПИДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЖЕНЩИН С ДИАГНОЗОМ «ЭНДОМЕТРИОИДНАЯ АДЕНОКАРЦИНОМА»

Иванова Т.И., Полуэктова М.В., Хорохорина В.А., Чиркова Т.В., Мкртчян Л.С., Сыченкова Н.И., Рябченко Н.И., Крикунова Л.И.

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава РФ, Обнинск, Россия

Введение. Актуальность проводимых исследований обусловлена ростом онкологических заболеваний органов женской репродуктивной системы, прирост которых в 2015 г. по сравнению с 2005 г. составил 56% (Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В., 2017). Среди эндогенных факторов в развитии злокачественных заболеваний большое значение имеет генетическая предрасположенность, поэтому важно определить аллельные варианты генов, лежащие в основе этих заболеваний. Известно, что риск возникновения рака эндометрия возрастает в 2-3 раза в условиях метаболического синдрома, что диктует необходимость изучения молекулярно-генетических механизмов заболеваний эндометрия на фоне метаболического синдрома (Rosato V., et al., 2011, Александровский Я.А., 2002). Имеются данные о том, что риск эстрогенозависимых раков сопряжен с определенными аллелями генов, участвующих в метаболизме железа и липидов (Gannon et al., 2011; Marques et al., 2014). Однако, в литературе до сих пор отсутствовали данные о роли SNP rs 662 параоксоназы 1 (PON1) в патогенезе злокачественных заболеваний матки, его влиянии на метаболизм железа и липидов при данной патологии. Известно, что параоксоназа 1 обладает антиоксидантной активностью, препятствуя окислению липидов и липопротеидов низкой плотности, ассоциирована с липопротеидами высокой плотности (GeneCards). Эндометриоидная аденокар-

цинома сопровождается повышенным уровнем эстрогенов в сочетании с низким содержанием прогестеронов, ассоциирована с ожирением, оксидативным стрессом и неоплазиями, стимулированными повышенной экспрессией эстрогенов, ей часто предшествует гиперплазия эндометрия (Abal M., et al., 2006). Ранее нами была показана ассоциация изоформ E2 апополипротеина E и rs 662 PON1 с эндометриоидной аденокарциномой (Иванова Т.И., с соав., 2014; Ivanova T.I., et al., 2015). Установлено, что метаболический синдром обостряется у больных носительниц аллели E2, у которых наблюдаются повышенные показатели ИМТ и сывороточного железа (Иванова Т.И., с соав., 2014).

Целью данной работы была оценка значимости SNP rs 662 PON1 для процессов метаболизма железа и липидов, протекающих у больных раком тела матки на фоне/ без гиперплазии эндометрия.

Материал и методы. Объектом исследования была периферическая кровь больных с морфологически верифицированной эндометриоидной аденокарциномой тела матки I стадии (T1NoMo), развившейся на фоне гиперплазии эндометрия (РЭ+ГЭ, 42 человека в возрасте от 28 до 76 лет) и без неё (РЭ, 78 человек в возрасте от 37 до 75 лет), а также здоровых женщин (46 человек в возрасте от 40 до 78 лет). Биохимические исследования сыворотки крови проводились в группе клинической биохимии