клеток в фазе G0/G1 на 25 % в линиях Mel IL и Mel IL/R, на 15 % – в линии A375 относительно контроля. Комбинация MEK162 и RAP активировала апоптоз через 72 ч в 55 % клеток Mel IL/R, в 58 % – A375, в 87 % – Mel IL, при этом клетки Mel IL/R находились в стадии раннего апоптоза. Комбинация MEK162 и RAP снижала фосфорилирование MEK и mTOR во всех клеточных линиях. MEK162 и RAP активировали AKT, но их комбинация снижала фосфорилирование белка. Комбинация препаратов повышала уровень clPARP по сравнению с препаратами в монорежиме в 3 клеточных линиях.

Выводы. Нами показано, что комбинация MEK162 и RAP индуцирует апоптоз и приводит к аресту клеточного цикла в фазе G0/G1 на линиях меланомы, чувствительных и резистентных к BRAF-ингибиторам. Данная комбинация может быть перспективна для дальнейшего исследования.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант № 14-35-00107-П).

Экспрессия TRIM16 при раке предстательной железы: связь с особенностями гормональной рецепции

Л.В. Спирина[1, 2], А.К. Горбунов[1], Е.А. Усынин[1], И.В. Кондакова[1], Е.М. Слонимская[1, 2]

[1] НИИ онкологии, Томский НИМЦ;
[2] ФГБОУ ВО «СибГМУ» Минздрава России, Томск

Введение. Изучение молекулярных показателей, определяющих развитие и прогрессирование заболевания, является одной из актуальных проблем. В манифестации рака предстательной железы (РПЖ) важную роль играют андрогеновые рецепторы, однако и эстрогеновые рецепторы (ЭР-α, ЭР-β) могут определять особенности течения заболевания. Известно, что белок TRIM16 является онкосупрессором и обладает антиэстрогенным эффектом, однако его вклад в развитие РПЖ не изучен.

Задачи исследования. Определение экспрессии TRIM16, андрогеновых рецепторов (АР), ЭР-α, ЭР-β в ткани доброкачественной аденомы и РПЖ.

Материалы и методы. В исследование включено 65 больных местно-распространенным РПЖ (T2–3N0M0), а также 25 пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы. Экспрессию TRIM16, АР, ЭР-α определяли методом ПЦР в реальном времени.

Результаты. В ткани РПЖ отмечен рост экспрессии TRIM16 и ЭР-α соответственно в 5,80 и 30,33 раза по сравнению с показателями ткани аденомы. В обеих группах больных отмечен высокий уровень матричных РНК АР.

Выявлены связи изучаемых молекулярных показателей с клинико-морфологическими параметрами заболевания. У больных с наличием инвазии в семенные пузырьки наблюдалось снижение экспрессии TRIM16 в 4 раза по сравнению со значениями показателя у пациентов без инвазии, причем оно протекало на фоне роста экспрессии АР и ЭР-α в 1,78 и 3,90 раза соответственно. При этом наличие регионарных и отдаленных метастазов приводило к значительному торможению экспрессии TRIM16 (в 3,5 раза) по сравнению с ее уровнем у пациентов с локализованным раком, что подтверждает онкосупрессорную роль данного белка.

Выявлено увеличение экспрессии ЭР-β у пациентов с РПЖ с ростом показателя Глисона и снижением степени дифференцировки опухоли. Эта зависимость была подтверждена корреляционным анализом ($r = 0{,}3$, $p < 0{,}05$). Также были установлены ассоциации между уровнем ПСА и экспрессией TRIM16 ($r = -0{,}38$, $p < 0{,}05$), ЭР-β ($r = 0{,}33$, $p < 0{,}05$).

Выводы. Развитие РПЖ связано с ростом экспрессии TRIM16, ЭР-α. Развитие метастазов заболевания связано со снижением TRIM16, что ассоциировано с повышением уровня ПСА. Выявлено увеличение экспрессии ЭР-β при увеличении коэффициента Глисона и ПСА, что характерно для агрессивного роста опухоли. Следовательно, молекулярные маркеры играют важную роль в развитии злокачественных новообразований, что, однако, требует дальнейшего изучения.

Регуляция экспрессии *BRCA1* и эстрогеновых рецепторов в клетках рака молочной железы

Е.А. Шестакова, А.М. Щербаков, О.М. Рябинина, А.Н. Гришанина, К.Е. Галеева, Т.А. Богуш

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

Введение. *BRCA1*, ключевой регулятор репарации ДНК, участвует в поддержании стабильности генома. Нарушение функционирования *BRCA1* ассоциировано с развитием ряда онкологических заболеваний, включая РМЖ и рак яичников. К настоящему времени получены данные о взаиморегуляции экспрессии BRCA1 и эстрогеновых рецепторов α (ЭР-α).

Задачи исследования. Изучение влияния гипоксии, эстрогенов и антиэстрогенов на экспрессию *BRCA1* и рецепторов эстрогенов в клетках гормонозависимого РМЖ.

Материалы и методы. Клетки РМЖ линии MCF-7 культивировали в среде DMEM с 10 % сыворотки телят. В условиях гипоксии (1 % O_2) клетки инкубировали 24 ч при отсутствии или в присутствии 10 мкмоль тирапазамина (TPZ). Инкубацию с 17β-эстрадиолом (E2, 10 нмоль и/или тамоксифеном (5 мкмоль) проводили в течение 24 ч в среде без стероидов. Для строго количественной оценки экспрессии BRCA1 и ЭР-α применялся иммунофлуоресцентный метод, ассоциированный

с проточной цитофлуориметрией; использованы антитела, специфичные к BRCA1 (SD118), ЭР-α (SP-1, ab27614), вторичные антитела, конъюгированные с DyLight 650 (ab98729, ab98510), проточный цитофлуориметр Navios (Beckman Coulter, США). Статистическая обработка проведена методом Колмогорова–Смирнова с помощью программы FlowJo (США).

Результаты. 1. В условиях гипоксии наблюдалось уменьшение интенсивности и индекса экспрессии BRCA1 и ЭР-α по сравнению с показателями контрольных клеток (в 1,3 и 1,4 раза; в 1,2 и 1,4 раза соответственно). 2. Инкубация клеток с TPZ, вызывающим двухцепочечные разрывы в молекуле ДНК в условиях гипоксии, приводила к увеличению индекса экспрессии BRCA1 в 1,6 раза, при этом индекс экспрессии ЭР-α уменьшился в 4,1 раза. 3. Продемонстрировано воздействие эстрогена E2 и антиэстрогена тамоксифена на экспрессию ЭР-α. При инкубации с E2 интенсивность и индекс экспрессии ЭР-α снизились в 3,9 и 4,3 раза соответственно. При воздействии антиэстрогена тамоксифена оба показателя снизились в 1,6 раза. Инкубация с E2 и тамоксифеном приводила к уменьшению интенсивности и индекса экспрессии ЭР-α в 2,9 и 3,1 раза соответственно. При этом инкубация с эстрогенами и антиэстрогенами не вызывала изменений в экспрессии BRCA1.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о частичной функциональной инактивации *BRCA1* и ЭР-α в клетках РМЖ линии MCF-7, культивируемых в гипоксии. Гипоксический цитотоксин (TPZ) вызывает восстановление экспрессии BRCA1 с параллельным снижением экспрессии ЭР-α. Несмотря на влияние эстрогенов и тамоксифена на экспрессию ЭР-α, в условиях эксперимента влияния этих гормональных регуляторов на экспрессию BRCA1 не наблюдалось. В целом результаты открывают перспективы комплексного исследования воздействия гипоксии и гормонов на процессы репарации ДНК, стабильность генома и регуляцию роста клеток РМЖ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты № 15-04-06991-а, 15-04-02172).

Эффект координированной активации mTOR и AKT-сигналинга при развитии приобретенной резистентности опухолей к рапамицину

Ю.Ю. Щеголев, А.М. Щербаков, В.А. Шатская, М.А. Красильников

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

Введение. Хорошо известно, что одним из основных факторов, снижающих эффективность противоопухолевых препаратов, является резистентность опухолей к их действию – либо врожденная, либо приобретенная в процессе терапии. Вопрос о резистентности опухолей к препаратам, действующим на mTOR-сигнальный путь, несмотря на очевидную актуальность, практически не исследован – во многом из-за относительно непродолжительного опыта их применения в качестве противоопухолевых соединений.

Задачи исследования. Изучение механизма резистентности злокачественных опухолей к ингибитору mTOR рапамицину.

Материалы и методы. Клетки РМЖ MCF-7, MDA-MB-231 и немелкоклеточного рака легкого NCI-H1299 культивировали с рапамицином в режиме возрастающей концентрации препарата в течение 90 сут, затем клетки переводили в стандартную среду без добавок и продолжали культивирование в течение 60 сут. Анализ скорости роста клеток (МТТ-тест) показал, что такие клетки отличаются выраженной устойчивостью к цитостатическому действию рапамицина по сравнению с исходными родительскими клетками.

Результаты. При исследовании mTOR-сигнального пути мы обнаружили существенную активацию mTOR во всех вариантах резистентных клеток, причем высокий уровень mTOR сохранялся и при однократной обработке клеток рапамицином. Одновременно в резистентных клетках отмечается повышенный уровень AKT – основного антиапоптотического белка PI3K-сигналинга. Примечательно, что лишь длительная обработка клеток рапамицином приводит к активации AKT, в то время как однократное добавление рапамицина не влияет на уровень AKT.

Выводы. Формирование резистентности к рапамицину в клетках злокачественных опухолей различного происхождения развивается по универсальному механизму, включающему активацию mTOR-сигнального пути и повышение активности AKT. Дальнейшее продолжение этих исследований позволит идентифицировать комплексные изменения внутриклеточного сигналинга, характерные для резистентных клеток, и оценить их значение в развитии приобретенной резистентности клеток к ингибиторам mTOR.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 16-04-00347).