СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

III международная конференция

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В ТРАНСЛЯЦИОННОЙ БИОМЕДИЦИНЕ

3–5 июня 2025 г.

г. Томск

Сборник материалов

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Сибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России)

III международная конференция

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В ТРАНСЛЯЦИОННОЙ БИОМЕДИЦИНЕ

3–5 июня 2025 г.
г. Томск

СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ

Под редакцией проф. Ю.Г. Кжышковска

Томск
Издательство СибГМУ
2025

УДК 57(06)
ББК 28.70я43
Г 340

Г 340 **Генетические технологии в трансляционной биомедицине**: сборник материалов III Международной конференции: Томск, 3–5 июня 2025 г. / под. ред. Ю.Г. Кжышковска. – Томск: Изд-во СибГМУ, 2025. – 64 с.

ISBN 978-5-98591-158-9
DOI 10.20538/978-5-98591-158-9

В сборнике материалов III международной конференции «Генетические технологии в трансляционной биомедицине» представлены результаты научных и прикладных исследований, посвященных обсуждению ключевых вопросов современной биомедицинской науки, а именно – генетических и эпигенетических технологий для диагностики и борьбы с онкологическими, метаболическими, сердечно-сосудистыми, психоневрологическими заболеваниями, достижений мировой науки в области иммунотерапии опухолей различной локализации, методик доклинических исследований и современных проблем и достижений клинической медицины.

Сборник содержит фундаментальные данные, открывающие перспективы разработки инновационных подходов персонализированной терапии больных для улучшения качества жизни пациентов.

УДК 57(06)
ББК 28.70я43

Под редакцией проф. Ю.Г. Кжышковска

Тезисы статей публикуются в авторской редакции. Ответственность за достоверность содержания работ лежит на авторах.

ISBN 978-5-98591-158-9
DOI 10.20538/978-5-98591-158-9

СОДЕРЖАНИЕ

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИСТЕМЫ GAL4/UAS ТРАНСГЕННЫХ ЛИНИЙ DROSOPHILA MELANOGASTER ПРИ ИЗУЧЕНИИ СВОЙСТВ РАСТИТЕЛЬНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ

THE GAL4/UAS SYSTEM OF DROSOPHILA MELANOGASTER TRANSGENIC STRAINS IS A TOOL IN STUDYING THE PROPERTIES OF HERBAL MEDICINAL PLANTS

Антосюк О.Н.[1], Мокроусов А.Д.[1], Костенко В.В.[2], Болотник Е.В.[3]
E-mail: antosuk-olga@mail.ru

[1]Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург, Россия
[2]Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия
[3]Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург, Россия

Введение. Лекарственное растительное сырье имеет ряд преимуществ перед синтетическими аналогами, в частности характеризуется меньшей генотоксичностью и ксенобиотическим действием. Для изучения изменения экспрессии генов человека, вовлеченных в реализацию заболеваний, применяются, в том числе и трансгенные модельные объекты. Белок-предшественник β-амилоида (Amyloid precursor protein (APP)) экспрессируется во многих тканях и концентрируется преимущественно в синапсах нейронов. Изменение экспрессии APP может приводить к гипертензии, нейродегенеративным состояниям, согласно исследованиям, сайт CpG на промоторе гена APP гипометилирован при болезни Альцгеймера (AD) головного мозга, что вызывает сверхэкспрессию белка-предшественника амилоида, следовательно, перепроизводство и аномальный метаболизм β-амилоида.

Цель исследования: тестирование экстрактов представителей семейства Lamiaceae с применением гибридных особей *Drosophila melanogaster*, полученных путем скрещивания разных трансгенных линий.

Материалы и методы. В работе использовали гибридное потомство от скрещивания трансгенных линий *D. melanogaster*: самок daughterless-Gal4 (da-Gal4) и самцов UAS-APP695-N-myc. Этанольные экстракты представителей семейства Lamiaceae: *Betonica officinalis* L. и *Monarda citriodora* Cerv. Ex Lag. добавляли в питательную среду в 5% концентрации относительно объема субстрата. Экспрессию гена APP оценивали по интенсивности свечения, используя программу Image J.

Результаты и обсуждение. Определили изменения в экспрессии APP как на постэмбриональном этапе развития, так и у взрослых особей. Применение экстракта *B. officinalis* приводит к интенсификации вакуолизации и сверхэкспрессии APP уже спустя 2 недели жизни мух, тогда как при внесении экстракта *M. citriodora* обнаружили гипоэкспрессию APP и снижение представленности вакуолей в мозге.

Заключение. Экстракты *M. citriodora* и *B. officinalis* характеризуются разнонаправленным эффектом в отношении изменения экспрессии гена APP и процессов вакуолизации, как геронтологических особенностей при моделировании нейродегенеративных заболеваний.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФЛАВОНОИДА ШАФТОЗИДА НА ОБУЧЕНИЕ И ПАМЯТЬ ЖИВОТНЫХ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

EXPERIMENTAL STUDY OF THE EFFECT OF THE FLAVONOID SHAFTOSIDE ON LEARNING AND MEMORY IN ANIMALS

Афанасьева О.Г.[1], Поветьева Т.Н.[1], Зибарева Л.Н.[2], Нестерова Ю.В.[1], Кульпин П.В.[1], Всяких О.В.[1], Суслов Н.И.[1].
E-mail: olgaafanasjeva@mail.ru

[1]НИИ фармакологии Томского НИМЦ, г. Томск, Россия
[2]Томский государственный университет, г. Томск, Россия

Введение. Флавоноиды, являясь большим классом природных соединений, присутствуют во всех частях растений, Они проявляют большое количество фармакологических свойств: антиоксидантные, противовоспалительные, противомикробные, гепатопротекторные, нейропротекторные и др., чем привлекают внимание фармакологов.

Цель исследования – изучить влияния флавоноида шафтозида, выделенного из *Lychnis chalcedonica L.*, на обучение и память животных в эксперименте.

Материалы и методы. Исследование было проведено на 43 аутбредных мышах-самцах CDI. Влияние флавоноида шафтозида на обучение и память изучали при выработке и воспроизведении условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ). Водный раствор шафтозида в дозах 0,001 мг/кг, 0,015 мг/кг, 0,03 мг/кг и пирацетама в дозе 400 мг/кг животные получали per os ежедневно однократно в течение 5 дней, последний раз – за 1 ч до исследования в установке УРПИ. Животные контрольной группы получали воду, очищенную в эквивалентном объеме. Методика УРПИ основана на подавлении врожденного рефлекса предпочтения темного пространства у грызунов, вызванного страхом электро-болевого воздействия. Животное помещали в светлый отсек установки УРПИ, где оно переходило в темный отсек, после чего дверка, соединяющая оба отсека, перекрывалась, и на пол темного отсека подавали импульсный электрический ток. Через 10 с дверку открывали, и животное выбегало в светлый отсек с обычным полом. В результате чего у мышей вырабатывался условный рефлекс избегания темного пространства. При проверке воспроизводимости рефлекса на 1, 7, 14, 21, 28 сут после выработки животных помещали в светлый отсек и наблюдали в течение 3-х мин. Выработанным рефлекс считался, если в течение 3-х мин наблюдения животное ни разу не посетило темный отсек. О качестве рефлекса судили по доле животных с наличием рефлекса. Данные обрабатывали статистически с использованием параметрического критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при $p \leq 0.05$.

Результаты и обсуждение. В ходе проведенного эксперимента было выявлено, что животные контрольной группы демонстрировали воспроизведение рефлекса на уровне 100 % только через 24 ч после его выработки. В последующие дни проверки воспроизводимость снизилась до 89 % (7 сут) и 56 % (14 и 21 сут). А в 28 день рефлекс УРПИ воспроизводился только у 33 % мышей. Пирацетам обеспечивал сохранность памятного следа у 75 % животных в 1 сут после выработки, на 7 сут – у 88 % животных. На 14 и 21 сут отмечали воспроизведение рефлекса у 100 % мышей. Но к 28 дню только 50 % животных не заходили в темный отсек УРПИ. Применение флавоноида шафтозида в дозе 0,015 мг/кг обеспечивало сохранность памятного следа у 100 % мышей в 1, 7, 21 сут эксперимента, а в 14 и 28 – на уровне 89 %. Животные, получавшие флавоноид шафтозид в дозах 0,001 мг/кг и 0,03 мг/кг демонстрировали сохранность УРПИ на уровне 100 % лишь в 1 сутки после его выработки. В дальнейшем фиксировали угасание рефлекса, и к 28 дню воспроизведение составило 56 % (доза 0,001 мг/кг) и 50 % (доза 0,03 мг/кг).

Заключение. Таким образом, в ходе эксперимента УРПИ курсовое применение флавоноида шафтозида в дозе 0,015 мг/кг обеспечивало выраженное влияние на обучение и память, превосходящее препарат сравнения пирацетам.

РЕГУЛЯТОРНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА *SELE* ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

REGULATORY POLYMORPHISM OF THE *SELE* GENE IN CORONARY HEART DISEASE

Бабушкина Н.П.[1], Долбня А.Д.[3], Николаева А.М.[2], Кужелева Е.А.[2], Тукиш О.В.[2], Гарганеева А.А.[2]

[1]Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия
[2]Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия
[3]Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

Введение. Ранее нами была выявлена ассоциация rs5353 в гене *SELE* с развитием инфаркта миокарда с подъемом сегмента ST (ИМпST), причем ассоциация более выражена в подгруппе с благоприятным ремоделированием миокарда [Николаева и др., 2024].

Цель настоящего исследования - изучить rs5353 при другом сердечно-сосудистом состоянии, а именно – при ишемической болезни сердца с атеросклерозом коронарных артерий.

Материалы и методы. В исследование включены пациенты с хронической ИБС (n=177 человек, $\bar{x}$=55,4 года (ИБС)) и популяционная выборка жителей г. Томска (n=136, $\bar{x}$=62 (К)). Все обследованные этнически однородны и представлены преимущественно русскими (>95%). Группа ИБС собрана на базе НИИ кардиологии Томского НИМЦ. Генотипировали методом Real-Time ПЦР. Статистический анализ проводили с использованием общепринятых методов анализа ($\chi 2$, OR, регрессионный анализ), значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Статистически значимых различий между группой пациентов и контролем выявлено не было (p=0,067 и p=0,057 по аллелям и генотипам соответственно). Изученная группа не однородна по ряду параметров, характеризующих миокард. Мы рассмотрели отдельно подгруппы, выделенные на основании показателя КДО. По частотам генотипов статистически значимо от контрольной выборки отличалась подгруппа с КДО <140 мл (p=0,018). Различия между группами обусловлены генотипом CC, который в этой группе встречался более чем в 5 раз чаще, чем в контроле (11,59% против 2,21%). В группе с дилатацией левого желудочка частоты как аллелей, так и генотипов отличались от контрольных в пределах 10,5%, однако эти различия были статистически не значимы.

Поскольку КДО <120 мл также нормой не является, подгруппа с КДО < 140 мл была подразделена еще на 2 части: КДО <120 мл (ИК_1, n=48 человек) и 120-140 мл (ИК_2, n=23). Статистически значимые отличия от контрольной выборки как по частотам аллелей (19%, p=0,009), так и по частотам генотипов (7-22%, p=0,002) были зарегистрированы для подгруппы ИК_2. Аллель C является рисковым для ИБС без патологического ремоделирования (OR=2,54 (95%CI: 1,31-4,92) за счет как гомо-, так и гетерозиготного состояния (хотя результаты для этих генотипов статистически и не значимы), генотип TT является протективным (OR=0,40 (95%CI: 0,16-0,98). Малый размер данной подгруппы заставляет относиться к полученным результатам с большой осторожностью, однако, в проведенном нами ранее исследовании группы ИМпST отличия от контроля были наиболее существенны для пациентов именно с благоприятным ремоделированием миокарда. Соответственно, полученные в настоящем исследовании результаты согласуются с полученными ранее.

Работа выполнена при частичном финансировании Госзадания Министерства науки и высшего образования (№ 122020300041-7 и №122020300043-1).

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПРЕДИКТОРЫ ОТВЕТА НА FOLFOXIRI ПРИ МЕТАСТАТИЧЕСКОМ РАКЕ ТОЛСТОЙ КИШКИ

MOLECULAR PREDICTORS OF FOLFOXIRI RESPONSE IN METASTATIC COLON CANCER

Бабышкина Н.Н.[1,2], Дронова Т.А.[1], Еремин Д.А[1], Костромицкий Д.Н.[1], ДобродеевА.Ю.[1],Чердынцева Н.В.[1]
E-mail: nbabyshkina@mail.ru

[1]НИИ онкологии Томского НИМЦ, г. Томск, Россия
[2]Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

Актуальность. FOLFOXIRI представляет собой комбинацию фторпиримидинов с добавлением лейковорина, оксалиплатина и иринотекана, которая вошла в стандарты лечения метастатического рака толстой кишки (мРТК). Однако, четких критериев чувствительности к FOLFOXIRI у пациентов с синхронными метастазами в печень в настоящее время не разработано.

Цель исследования – провести транскриптомное исследование с последующей оценкой РНК-транскриптов, определяющих изменение экспрессионного профиля белков в зависимости от неоадъювантного применения FOLFOXIRI у больных мРТК.

Материалы и методы. Полнотранскриптомное секвенирование 34 образцов РНК от 6 пациентов мРТК ($T_{3-4}N_1M_1$), включающих образцы опухоли толстой кишки и метастатических узлов в печень до и после неоадъювантной химиотерапии FOLFOXIRI, проведено на платформе DNBSeq с использованием набора DNBSEQ-G400RS High-throughput Sequencing Kit (MGI, China). Экспрессионный профиль белков в опухоли толстой кишки и метастазах в печень проанализирован на проточном цитофлуориметре CytoFLEX («Beckman Coulter», США).

Результаты. Определены специфические профили экспрессии 62 генов для первичной опухоли толстой кишки и 301 гена для метастазов в печени на фоне применения FOLFOXIRI. Проведено их аннотирование и отобрано девять транскриптов, потенциально ассоциированных с эффективностью FOLFOXIRI. Выявлено, что высокий уровень экспрессии генов *IL1RN* (в опухоли) и *NAMPT* (в метастазах в печени) после лечения коррелирует с высоким содержанием их белковых продуктов в соответствующих тканях, что связано с частичной регрессией опухолевого процесса, как в первичном очаге, так и в метастатическом узле. Наличие гипоэкспрессированных транскриптов *PCSK9* (в опухоли) и *DGAT1* (в метастазах в печени) после лечения и низкое содержание их белковых продуктов может являться предиктором эффективного ответа на FOLFOXIRI. Гиперэкспрессия *ZG16* (в опухоли) и *EPS8L2* (в метастазах) до FOLFOXIRI сопряжена с высокой продукцией соответствующих белков, что потенциально может быть связано с частичной регрессией первичного очага и полным патоморфологическим ответом метастатических узлов в печени. Прогрессирование первичной опухоли толстой кишки ассоциировано с потерей белковой экспрессии FOS при наличии гиперэкспрессированного транскрипта.

Выводы. Выявленные особенности транскрипционной активности генов *IL1RN, NAMPT, PCSK9, DGAT1, ZG16, EPS8L2, FOS* и содержание их белковых продуктов могут определять специфичные механизмы реализации про- и противоопухолевой активности в ткани первичной опухоли и метастазах в печень, и рассматриваться в качестве возможных молекулярных предикторов ответа на FOLFOXIRI.

ИНТЕРНАЛИЗАЦИЯ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ ОТ БОЛЬНЫХ С МУЛЬТИФОРМНОЙ ГЛИОБЛАСТОМОЙ: СВЯЗЬ С ХАРАКТЕРИСТИКАМИ ПЕРВИЧНОЙ ОПУХОЛИ, ПОЛОМ И ВОЗРАСТОМ

INTERNALIZATION EXTRACELLULAR VESICLES FROM PATIENTS WITH GLIOBLASTOMA MULTIFORME: LINK TO CHARACTERISTICS OF THE PRIMARY TUMOR CHARACTERISTICS, SEX, AND AGE

Юнусова Н.В.[1,2], Кайгородова Е.В[1,2]. , Безчастнова Г.С.[2], Табакаев С.В. [1], Кондакова И.В. [1], Вторушин С.В.[1]
Email: Gelenayes2002@mail.ru

[1]НИИ онкологии Томский НИМЦ, г. Томск, Россия
[2]Сибирский государственный медицинский университет, кафедра биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, г. Томск, Россия

Введение. Глиобластома (ГБ) – агрессивная опухоль мозга с высокой инвазивностью и гетерогенностью. Внеклеточные везикулы (ВВ), содержащие белки и микроРНК, участвуют в межклеточной коммуникации. Их интернализация зависит от молекулярного состава и влияет на агрессивность ГБ. Анализ ВВ может служить основой для диагностики, мониторинга и разработки новых терапевтических подходов.

Цель исследования – изучить различные варианты интернализации ВВ больных с мультиформной глиобластомой PBMCs донора во взаимосвязи с клиническими и морфологическими характеристиками первичной опухоли, а также с такими параметрами, как пол и возраст.

Материалы и методы. Выделение мононуклеаров периферической крови проводили методом Бойума. Малые ВВ выделяли ультрафильтрацией с последующим двойным ультрацентрифугированием, подтверждая их природу трансмиссионной электронной микроскопией и анализом траекторий наночастиц (NTA). Окрашивание везикул витальным красителем PKH26 обеспечивало их флуоресцентное обнаружение. Для анализа интернализации меченные ВВ инкубировали с мононуклеарами крови. Визуализация выполнялась методом флуоресцентной микроскопии, а количественные данные обрабатывались в программе STATISTICA.

Результаты. В исследование были включены 25 пациентов с подтверждённым диагнозом глиобластомы. Среди них: 6 пациентов относились к группе «Без рецидива», а 19 пациентов имели рецидив локального и нелокального паттерна. Анализ количества клеток (CD14+ с интернализацией, CD14- без интернализации, а также общего количества клеток без интернализации) не выявил статистически значимых различий между группами с рецидивом и без него. При сравнении численности клеток в подгруппах с локальным и нелокальным рецидивом также не выявлено значимых различий по всем изученным показателям. Корреляционный анализ не продемонстрировал достоверной зависимости между исследуемыми клеточными группами.

Выводы. Данная методика позволяет детально классифицировать субпопуляции CD14+ и CD14-лимфоцитоподобных и CD14-моноцитоподобных клеток с интернализацией ВВ и без, однако требует дальнейшей доработки и уточнения для возможности использования у пациентов с глиобластомой.

РЕЗУЛЬТАТЫ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ОПУХОЛЕВОГО МАТЕРИАЛА БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКИХ

THE RESULTS OF SEQUENCING OF TUMOR MATERIAL FROM PATIENTS WITH LUNG CANCER

Бредихин Д.А.[1,2], Субботовская А.И.[1], Петров А.А.[1], Орлов П.С.[1]
E-mail: demid87@yandex.ru

[1] *ФГБНУ «ФИЦ ФТМ», г. Новосибирск, Россия*
[2]*ФГАОУ ВО «НГУ», г. Новосибирск, Россия*

Введение. По данным ВОЗ рак легких (РЛ) является одним из наиболее распространенных форм рака и ведущей причиной смерти от онкозаболеваний. Среди различных форм РЛ наиболее часто (до 90%) встречается немелкоклеточный рак легких (НМРЛ), которому свойственны высокая агрессивность с частым метастазированием и бессимптомное течение, из-за чего заболевание у большинства пациентов диагностируется на поздних стадиях. Это значительно осложняет лечение таких больных и требует назначения различных терапевтических методов, в числе которых таргетная терапия. Данный вид терапии проводится при наличии клинически значимых мутаций в генах *EGFR, BRAF, KRAS, ERBB2, MET, RET, ALK, ROS1, NTRK*. Поэтому согласно Российским и зарубежным рекомендациям по диагностике и лечению НМРЛ, пациентам следует проводить генетическое тестирование для выявления таких мутаций в ткани опухоли.

Цель исследования – выявить клинически значимые генетические варианты в опухолевой ткани больных НМРЛ методом высокопроизводительного секвенирования (NGS).

Материалы и методы. Материал исследования – образцы, фиксированной формалином и заключенной в парафин, опухолевой ткани от 69 больных НМРЛ, из которых выделяли ДНК и РНК, используя набор «PureCode DNA/RNA Double Magnetic FFPE». Затем из полученных препаратов ДНК и РНК готовили генетические библиотеки с помощью мультигенной панели «OncoScope NSCLC Solution». С целью эквимолярного объединения библиотек перед секвенированием концентрацию готовых библиотек измеряли на Флуориметре Qubit 4 (Thermo Scientific, США). Секвенирование пулированных библиотек осуществляли на приборах MySeq (Illumina, США) и FastaSeq (GeneMind, КНР) в режиме, рекомендованном производителем панели. Анализ данных NGS, аннотирование и классификация обнаруженных генетических вариантов по AMP и ACMG выполнялось ПО «OncoScope Software».

Результаты и обсуждение. Из 69 протестированных образцов лишь у 63 образцов качество полученной РНК позволило провести поиск транслокаций. Список 42 обнаруженных клинически значимых вариантов из международных рекомендаций представлен в таблице. Кроме того, у 33 пациентов найдены патогенные и вероятно патогенные варианты гена *TP53*.

Мутации в генах (из 69)							Транслокации генов (из 63)		
KRAS	NRAS	BRAF	EGFR	ERBB2	PIK3CA	MET	ALK	ROS1	RET
23,2%	1,4%	4,3%	11,6%	1,4%	4,3%	1,4%	7,9%	3,2%	3,2%
G12C G12D G12F G12V K117N Q61H	G12C	**V600E** G466E	**L858R** **del19ex** **ins19ex** **ins20ex** **I740_K745dup**	D769Y	E545K H1047R	**loss14ex**	**ALK-EML4**	**ROS1-CD74**	**RET-KIF5B**

Согласно Российским рекомендациям у пациентов обнаружены клинически значимые варианты, среди которых: 5 (7,2%) $KRAS^{G12C}$, 2 (2,9%) $BRAF^{V600E}$, 3 (4,3%) $EGFR^{L858R}$, 1 (1,4%) $EGFR^{I740\_K745dup}$, 3 (4,3%) делеции 19 и 1 (1,4%) инсерция 20 экзонов *EGFR*, 1 (1,4%) потеря 14 экозона *MET*, 9 (14,3%) химерных генов, включая 5 *ALK-EML4*, 2 *ROS1-CD74* и 2 *RET-KIF5B*.

Заключение. У 25 (36,2%) пациентов выявлены клинически значимые генетические варианты, включенные в список Российских рекомендаций для таргетного лечения НМРЛ.

БИОБАНК БГМУ КАК ЦЕННЫЙ РЕСУРС ИЗУЧЕНИЯ ОНКОУРОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

BIOBANKS OF BSMU AS A VALUABLE RESOURCE FOR ONCOUROLOGICAL DISEASES RESEARCH

Великомолова Ю.Б., Кагирова Э.М., Мухамадеев Р.Р., Алибаков С.Х.
E-mail: welikomolowa@yandex.ru

ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, Россия

Введение. Современные исследования в области генетики заболевания проводятся на больших выборках пациентов, поэтому биобанки становятся ключевыми инфраструктурами для современных генетических исследований и разработок, позволяя оперативно использовать выборки необходимого размера и широкий спектр качественного биоматериала

Цель исследования – разработка протокола биобанкирования, который позволит обеспечить высокое качество выделенной ДНК для дальнейшего изучения онкоурологических заболеваний.

Материалы и методы. Согласно стандартам этико-правового регулирования при исследовании, лечении или диагностике, связанных с геномом человека биобанкирование и исследование образов проводится нами только после подписания пациентом добровольного информированного согласия.

После получения биоматериала (свежей ткани, FFPE-блоков и цельной крови) в лаборатории молекулярной генетики проводится его подготовка для молекулярно-генетического анализа, направленного на выявление соматических и герминальных мутаций у пациентов с онкоурологическими заболеваниями (мелкоклеточный рак почки, рак простаты, рак мочевого пузыря). Свежая ткань immediately замораживается в жидком азоте или помещается в стабилизирующие растворы (например, RNAlater) для сохранения целостности нуклеиновых кислот. FFPE-образцы подвергаются депарафинизации с последующей экстракцией ДНК и РНК с использованием коммерческих наборов, оптимизированных для работы с фиксированным материалом. FFPE-блоки, также поступают в биобанк, замораживаются и хранятся длительное время при температуре -80 C^0, для дальнейших исследований. Цельная кровь либо помещается на хранение в биобанк при температуре -80 C^0, либо подвергается процессингу и выделению ДНК. Для длительного хранения при низких температурах используются специальные криопробирки объемом 4 мл, хранение цельной крови в ЭДТА пробирках-вакутейнерах допускается на непродолжительное время.

Выделение ДНК из цельной крови проводится при помощи коммерческих валидированных наборов в строгом соответствии с протоколом производителя. Благодаря использованию готовых наборов обеспечивается воспроизводимость результатов, высокая чистота препарата, и снижается риск контаминации. Контроль качества выделенных нуклеиновых кислот осуществляется с помощью спектрофотометрического анализа на приборе UV-vis Nabi, который оценивает концентрацию и чистоту образцов по соотношению оптической плотности при длинах волн 260/280 нм. Дополнительно выполняется электрофорез на биоанализаторе для оценки степени деградации ДНК/РНК.

Для хранения материала и ассоциированных с ним данных, в нашем биобанке применяется система штрих-кодирования. Это вариант анонимизации данных пациента, при котором сохраняются клинические данные, но полностью исключается возможность идентификации пациента по персональным данным.

Заключение. Полученные данные подтверждают, что метод забора, подготовки и хранения биоматериала обеспечивает высокую сохранность нуклеиновых кислот, что позволяет проводить последующие молекулярно-генетические исследования, включая секвенирование нового поколения (NGS) и анализ мутационного профиля.

ВКЛАД ГЕНОВ КИНАЗНОЙ, СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ И НЕЙРОТРОФИЧЕСКОЙ СИСТЕМ В ПАТОГЕНЕЗ АФФЕКТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ АНТИДЕПРЕССИВНОЙ ТЕРАПИИ

CONTRIBUTION OF KINASE, SEROTONERGIC AND NEUROTROPHIC SYSTEM GENES TO THE PATHOGENESIS OF AFFECTIVE DISORDERS AND THE EFFECTIVENESS OF ANTIDEPRESSIVE THERAPY

Вялова Н.М.[1], Иванова С.А.[1,2]
E-mail: Natarakitina@yandex.ru

[1]НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, г. Томск, Россия
[2]Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

Введение. Депрессивные расстройства (ДР) представляют собой гетерогенную группу заболеваний, этиология и точные патофизиологические механизмы, реакция на лечение и исход которых до настоящего времени мало изучены. Ни одна из существующих гипотез в отдельности не смогла полностью объяснить патологическую основу ДР, в то время как многие механизмы, предлагаемые этими гипотезами, взаимодействуют друг с другом. Является актуальным исследование генетических ассоциаций с ДР для предикции риска развития данных расстройств и прогноза эффективности антидепрессивной терапии.

Цель исследования – изучение вклада генов киназной, нейротрофической и серотонинергической систем в клинический полиморфизм депрессивных расстройств и эффективность антидепрессивной терапии.

Материалы и методы. Обследовано 310 пациентов в возрасте от 20 до 65 лет (260 женщин и 50 мужчин) с текущим депрессивным эпизодом, соответствующим большой депрессии (умеренной и тяжелой степени тяжести), в рамках единственного депрессивного эпизода (F32 по МКБ-10, 163 пациента) или рекуррентного депрессивного расстройства (F33 по МКБ-10, 147 пациентов), проходивших курс лечения в отделении аффективных состояний клиники НИИ психического здоровья Томского НИМЦ. Группу сравнения составили 285 психически и соматически здоровых лиц (189 женщин и 96 мужчин). Выделение геномной ДНК проводили фенол-хлороформным микрометодом из лейкоцитов периферической крови Генотипирование проводили методом ПЦР в реальном времени и методом масс-спектроскопии. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета SPSS 23.0.

Результаты и обсуждение. Получены данные о частотах встречаемости аллелей и генотипов по 19 полиморфным вариантам генов нейрональных киназ *PIP5K2A, SGK1, GSK3B, AKT1*, 29 полиморфным вариантам генов серотониновых рецепторов *HTR1A, HTR1B, HTR2A, HTR2C, HTR3A, HTR3B, HTR6*, 9 полиморфным вариантам генов ферментов синтеза и метаболизма серотонина *MAO-A, TPH1, TPH2* и 5 полиморфным вариантам генов нейротрофических факторов *BDNF, NGF, NRG1* у пациентов русской популяции Сибирского региона с депрессивными расстройствами, тяжестью депрессивных симптомов, наличием атипичных депрессивных симптомов, с ответом на терапию и ремиссией.

Заключение. Показано вовлечение исследуемых генов в патогенез депрессивных расстройств. Выявлены ассоциации полиморфных вариантов генов киназной, серотонинергической и нейротрофической систем, как с депрессивными расстройствами и их клиническим характеристиками, так и с ответом на получаемую антидепрессивную терапию и формированием ремиссии.

Исследование частично выполнено за счет гранта РНФ №23-15-00338, https://rscf.ru/project/23-15-00338/

СТАДИИ ЛИЗОСОМАЛЬНОГО ЭНТОЗА В ТКАНИ РАКА ЛЕГКОГО И КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

STAGES OF LYSOSOMAL ENTOSIS IN LUNG AND COLORECTAL CANCER TISSUE

Гаптулбарова К.А.[1,2], Кравцова Е.А.[1,2], Долгашева Д.С.[1,2], Цыденова И.А.[1,2,3], Вторушин С.В.[1,2,3], Литвяков Н.В.[1,2,3]

[1]НИИ онкологии Томского НИМЦ, г. Томск, Россия
[2]Томский государственный университет, г. Томск, Россия
[3]Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

Введение. Уже более века назад исследователи наблюдали в образцах злокачественных образований такие структуры как 'cell-in-cell' (CIC). Одним из способов образования CIC служит механизм под названием энтоз. Он представляет собой процесс, при котором клетки живые и жизнеспособные клетки интернализируются в соседние клетки того же типа, с вовлечением молекул адгезии, формируя те самые структуры CIC. В 2017 г. в своей работе Garanina A.S. et.al. предложили свой вариант последовательности стадий протекания энтоза в субстратно-зависимых культурах опухолей. Авторы выделили 5 стадий лизосомального энтоза *in situ* [1]. В литературе отсутствуют исследования демонстрирующие данные стадии непосредственно на клиническом материале онкологических больных.

Материалы и методы. В работе использовалось 35 гистологических образцов, окрашенный по схеме Гематоксилин/Эозин, полученный от больных раком легкого (РЛ), T1-3N0-3M0 (IIA-IIIA стадии) с морфологически верифицированным диагнозом. Из них для визуализации на гистосканере 3D HISTECH PANNORAMIC MIDI был отобран один образец для визуализации энтотических событий, частота у которого была более 0,3. Статистическая обработка данных от 35 пациентов была проведена с использованием пакетов прикладных программ «Statistica 8» (StatSoft Inc., USA).

Результаты. Первоначально была проанализирована частота встречаемости в 35 образцах больных РЛ. Средняя частота встречаемости составила 0,08. Также были произведены подсчеты по определению связи частоты энтоза с основными клинико-морфологическими параметрами (размер опухоли, лимфогенное метастазирование, степень дифференцировки и т.д.). В результате анализа было установлено, что частота энтотических событий практически не связана с клинико-морфологическими параметрами. Интересные данные были получены для лимфогенного метастазирования и отдаленного метастазирования. Так CIC чаще наблюдалось у людей с высокой частотой образования CIC, а уровень значимости для этих параметров составлял > 0,05. После, отбирался образец с наибольшей частотой встречаемости CIC для визуализирования энтоза на клиническом материале, а в процессе и получены результаты фиксации 5 основных стадий лизосомального энтоза, которые ранее выделяли в литературе.

Исследование энтоза будет продолжено, так как полученные нами результаты помогут пролить свет на понимание механизма быстрого развития анеуплоидных субпопуляций опухолевых клеток в процессе химиотерапии, стадии их образования и влияние данного процесса на последующее прогрессирование злокачественных опухолей.

Литература

1. Garanina A. S. et al. Consecutive entosis stages in human substrate-dependent cultured cells //Scientific reports. – 2017. – Т. 7. – №. 1. – С. 12555.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФНОГО ВАРИАНТА−1438G > A ГЕНА HTR2A НА ПРОФИЛЬЭФФЕКТИВНОСТИ СЕРТРАЛИНА У БОЛЬНЫХ СО СМЕШАННЫМ ТРЕВОЖНО-ДЕПРЕССИВНЫМ РАССТРОЙСТВОМ

Гареева А.Э.[1,2], Насибуллин Т.Р.[1], Поздняков С.А.[4], Бородина Л.С.[3], Михайлова Е.Г.[3], Тимербулатов И. Ф.[3]
E-mail:annagareeva@yandex.ru

[1]ФГБНУ Институт биохимии и генетики Уфимского Федерального исследовательского центра Российской академии наук, г. Уфа, Россия
[2]ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России, г. Москва, Россия
[3]ГБУЗ Республиканский наркологический диспансер №1 Минздрава Республики Башкортостан, г. Уфа, Россия
[4]ГБУЗ «Московский научно-практический центр наркологии Департамента здравоохранения города Москвы, г. Москва, Россия

Введение. Рецепторы серотонина являются основными мишенями СИОЗС, что делает их логичными кандидатами для фармакогенетических исследований.

Цель исследования – изучение влияния полиморфизма rs6311 гена *HTR2A* на эффективность терапии сертралином у пациентов с СТДР.

Материалы и методы. В исследование вошли 100 пациентов с диагнозом смешанное тревожно-депрессивное расстройство (СТДР) F 41.2 из Республики Башкортостан (РБ), находящихся на стационарном лечении в Республиканском клиническом психотерапевтическом центре Минздрава РБ. Пациенты получали сертралин в дозе 50–100 мг в сутки с 1 по 42 день. Эффективность терапии оценивали с помощью стандартных психометрических шкал. Генотипирование проводили методом полимеразной цепной реакции. Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с помощью программ SPSS v. 13.0. Для установления значимости фармакогенетических и параметров, как предикторов эффективности и безопасности фармакотерапии, применялись методы непараметрической статистики. Для оценки достоверности различий применяли критерий Манна–Уитни, критерия Бенджамина–Хохберга. Непрерывные (количественные) данные представлены в виде медианы, интерквартильного размаха (ИКР), минимума и максимума. Порядковые, категорийные и качественные данные представлены в виде абсолютных частот (количества наблюдений) и относительных частот (процентов). Сравнение нескольких выборок непрерывных данных производилось с помощью Н-теста Краскелла–Уоллиса (для данных, не подчиняющихся закону нормального распределения).

Результаты и обсуждение. Выявлены статистически значимые различия в выраженности депрессивной симптоматики между носителями разных генотипов rs6311 гена *HTR2A* на момент начала исследования HADS-D0 $p_{fdr} < 0{,}05$ и на 42 день HADS-D42 $p_{fdr} < 0{,}001$. Сравнение баллов по шкале HDRS у носителей разных генотипов по ОНП rs6311 гена *HTR2A* выявило, что на 14-й, 28-й и 42-й дни исследования наблюдались статистически значимые различия между носителями разных генотипов по шкале HDRS за счет статистически значимого повышения средних баллов у больных несущих генотип *rs6311*A/A* по сравнению с больными, несущими генотип *rs6311*G/A* и *rs6311*G/G* $p < 0{,}001$. В результате исследования нами установлено, что генотип *rs6311*A/A* можно рассматривать в качестве маркера низкой эффективности в отношении депрессивной симптоматики при приёме сертралина, что согласуется с рядом исследований.

Заключение. Продемонстрировано влияние полиморфного локуса rs6311 гена HTR2A на показатель эффективности сертралина. Результаты исследования являются предварительными, необходимо проведение исследования на больших выборках, а также на выборках из других регионов РФ.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-25-00378, https://rscf.ru/project/24-25-00378/

ГЕНОМНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ШИЗОФРЕНИИ: ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ

GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDIES OF SCHIZOPHRENIA: ACHIEVEMENTS AND PROSPECTS

Голимбет В.Е., Кондратьев Н.В.
E-mail: golimbet@mail.ru

ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», г. Москва, Россия

Введение. Шизофрения – тяжелое заболевание, в этиологии и патогенезе которого значимую роль играют генетические факторы. Молекулярно-генетические исследования последних десятилетий показали, что генетическая структура этого заболевания отражает его сложную природу, при этом основной вклад в риск развития шизофрении вносят полигенные факторы. Для оценки полигенного риска предложен показатель, который представляет собой интегральную оценку всех ассоциированных с заболеванием по данным полногеномного анализа ассоциаций аллелей риска, взвешенных на размер эффекта (отношение шансов). Применительно к генетическим исследованиям шизофрении показатель полигенного риска шизофрении (ППРш) оказался эффективным предиктором развития заболевания. Так, при разделении выборки на децили в последнем полногеномном анализе шизофрении ППРш увеличивался от группы к группе, при этом полигенный риск развития заболевания в группе с наиболее низким ППРш был выше в 44 раза, по сравнению с группой с наиболее высоким ППРш (Trubetskoy et al. 2022). Как следует из этих данных, преимуществом ППРш является достаточно большой размер эффекта, что дает возможность проводить исследования на относительно небольших выборках и, соответственно, расширять список фенотипов, связанных с заболеванием (Dudbridge 2013).

Цель исследования. На материале литературных данных и собственных исследований оценить возможность использования ППР для шизофрении (ППРш) в качестве предиктора развития заболевания и особенностей его течения, тяжести и функционального исхода.

Материалы и методы. Проведен анализ литературных источников по этой тематике.

Результаты и обсуждение. Показано, что ППРш является предиктором таких показателей как ранний возраст манифестации, негативные/дефицитарные симптомы, хронический тип течения, функциональное снижение (мета-анализ Taylor et al.2023). Также ППРш предсказывал траекторию развития болезни, в частности, изменение первичного диагноза биполярного аффективного расстройства на диагноз шизофрении (Jonas et al. 2020). Обнаружена положительная корреляция ППРш и дозы антипсихотика или полифармакотерапии (назначение >2 антипсихотиков) (Koch et al. 2024). Предприняты попытки создания моделей для классификации пациентов на подтипы шизофрении и для дифференциации ее от расстройств аффективного и шизофренического спектра по полигенным профилям (Chen et al. 2020, Rodriguez et al. 2023). Наши собственные исследования показали, что ППРш может рассматриваться в качестве инструмента для оценки риска развития психоза или снижения социального функционирования у пациентов с аттенуированными симптомами психоза (Кондратьев с соавт. 2024), а также служить дополнительным показателем для объяснения сложной клинической картины психотического расстройства на индивидуальном уровне (Kondratyev et al. 2023).

Заключение. ППРш обладает высокой предсказательной способностью в отношении развития шизофрении, тяжести ее клинических проявлений и функционального исхода.

ИЗУЧЕНИЕ МЕТАСТАТИЧЕСКОЙ СПОСОБНОСТИ КАРЦИНОМЫ ЛЕГКОГО ЛЬЮИСА ПОД ДЕЙСТВИЕМ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ИНГИБИТОРОВ ГЕНОВ СТВОЛОВОСТИ

STUDY OF THE METASTATIC ABILITY OF LEWIS LUNG CARCINOMA UNDER THE INFLUENCE OF LOW MOLECULAR WEIGHT INHIBITORS OF STEMNESS GENES

Долгашева Д.С.[1,2], Цыденова И.А.[1,2], Шагабудинова А.К.[1,3], Кравцова Е.А.[1,2], Литвяков Н.В.[1,3]
E-mail: normikus.18.97@gmail.com

[1]НИИ онкологии Томского НИМЦ, г. Томск, Россия
[2]Томский государственный университет, г. Томск, Россия
[3]Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

Введение. В отличие от первичных опухолей метастатическая болезнь является системным заболеванием и требует более сложных терапевтических стратегий. Одним из важных аспектов процесса метастазирования является роль генов стволовости, которые регулируют пролиферацию, выживаемость и метастатический потенциал опухолевых клеток. В последние годы низкомолекулярные ингибиторы генов стволовости привлекают внимание как потенциальные агенты для подавления метастатического процесса. Однако, их влияние на метастатическую способность опухолевых клеток остается недостаточно изученным.

Цель исследования. Оценить влияние низкомолекулярных ингибиторов генов стволовости на метастатический потенциал карциномы легкого Льюиса.

Материалы и методы. В исследование включено 40 имбредных мышей самок линии C57Bl/6 (возраст 7–8 недель) первой категории, разводки отдела экспериментального биомоделирования НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ. Эвтаназию животных проводили в CO_2-камере. В работе были использованы низкомолекулярные ингибиторы генов стволовости *TERT* (BIBR1532), *MYC* (10058-F4) и *NOTCH1* (FLI-06). Опухолевые клетки LCC получали при внутрибрюшинной инфузии средой RPMI-1640 мышей с трансплантированной внутрибрюшинно LLC за неделю до проведения эксперимента.

Результаты и обсуждение. Исследование показало, что низкомолекулярные ингибиторы генов стволовости существенно снижают количество и среднюю площадь метастазов, а также частоту метастазирования. Наилучшие результаты были получены при одновременном использовании всех трех ингибиторов. Для группы, в которой клетки были обработаны комбинацией ингибиторов, показано существенное снижение частоты метастазирования, она составила 20%. Частота метастазирования в контрольной группе составила 100%, в группе с ингибитором FLI-06 данный показатель составил 60%, а в группах с 10058-F4 и BIBR-1532 – 30%. Индекс ингибиции метастазирования для групп, в которых использовались клетки, обработанные одним ингибитором, составил 76%, 94% и 93% для FLI-06, BIBR-1532 и 10058-F4, соответственно. Для комбинации ингибиторов данный показатель составил 98%. Индекс торможения роста метастазов для группы с ингибитором FLI-06 составил 73%, для группы с BIBR-1532 – 88%, для группы 10058-F4 и комбинации ингибиторов – 91%.

Заключение. Проведенное исследование продемонстрировало, что низкомолекулярные ингибиторы генов стволовости существенно снижают метастатический потенциал карциномы легкого Льюиса (LLC). Наибольшая эффективность была достигнута при комбинированном применении ингибиторов, что привело к снижению частоты метастазирования до 20% (по сравнению с 100% в контрольной группе) и увеличению индекса ингибирования метастазирования до 98%. Индивидуальное применение ингибиторов также показало значительное снижение количества и площади метастазов, что подтверждает ключевую роль генов стволовости в процессе метастазирования.

ВЛИЯНИЕ АЛКОЛОИДА, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ *PETASITES HIBRIDUS*, НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ АПОПТОЗА В КЛЕТКАХ ОПУХОЛЕВОЙ ЛИНИИ *HT29*

EFFECT OF ALKOLOID ISOLATED FROM PETASITES HIBRIDUS ON APOPTOSIS GENES EXPRESSION IN HT29 TUMOR CELLS

Енин Я.С[1]., Буров О.Н[2]., Кутилин Д.С[1]., Дзигунова Ю.В[2]., Филлипова С.Ю[1]., Чембарова Т. В[1]., Межевова И. В[1]., Гненная Н.В[1]
Email: Dendro51@yandex.ru

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Введение. Изучение биологических эффектов вторичных метаболитов растений, включая алкалоиды, является одной из важных тенденций современных исследований; некоторые из них рассматриваются в плане возможного применения для терапии злокачественных опухолей.

Целью настоящего исследования является оценка противоопухолевой активности, опосредованной через экспрессию генов, влияющих на апоптоз, полученного нами алкалоида в эксперименте *in vitro* на линии опухолевых клеток HT29.

Материалы и методы. Выделение алкалоида из растительного материала – корневищ Белокопытника гибридного *Petasites hibridus* (L.) проводили методом препаративной хроматографии, определение состава – с помощью масс-спектрометрического анализа, окончательную верификацию структурной формулы – методом ЯМР: (2*S*,3*R*,12b*S*)-2,3-diethyl-12b-methyl-1,2,3,4,6,7,7a,12,12a,12b-decahydroindolo[2,3-*a*]quinolizine. Культивирование линии аденокарциномы толстой кишки HT29 проводили в стандартных условиях в среде MEM. При достижении 75-80% уровня конфлюэнтности заменяли питательную среду на среду с внесением алкалоида (в концентрациях 10 и 21 мкМ/Л) и культивировали 24 и 72 часа; в контрольную пробу вносили среду без алкалоида. Смертность клеток определяли на счетчике NanoEnTek JuliFl (Корея) в присутствии 0,4% трипанового синего. Оценку показателей экспрессии генов, связанных с апоптозом, проводили методом Real-time PCR с панелью генов *CASP9, CASP7, CASP3, TP53, MDM2, BAX, BCL2, PTEN, MTCH1, DIABLO, VDAC1*.

Результаты. В тесте с трипановым синим алкалоид оказал максимальный цитостатический эффект при концентрации 21 мкМ/Л и экспозиции 72 часа, вызвав гибель 60% клеток HT29. Результаты PCR показали, что в той же концентрации и экспозиции он вызвал увеличение экспрессии проапоптотического гена *BAX* по отношению к анитапоптотическому *BCL2* в 33 раза, повышение уровня экспрессии *CASP9* в 9 раз, *CASP7* в 12 раз, *CASP3* в 5 раз, а также привел к увеличению уровня экспрессии *DIABLO* в 5 раз, *MTCH1* в 8 раз по сравнению с контролем.

Выводы. Полученный алкалоид показал высокий уровень цитостатической активности *in vitro*, а также активацию генов апоптоза на линии HT29, что предполагает целесообразность исследования более широкого профиля его противоопухолевого действия.

СИСТЕМА ДОСТАВКИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЛЕКАРСТВ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА

IRON OXIDE NANOPARTICLE-BASED SYSTEM FOR ANTICANCER DRUG DELIVERY

Ефимова Л.В., Першина А.Г.
E-mail: bioscience@linaefimova.ru

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

Введение. Магнитные наночастицы оксида железа Fe_3O_4 (МНЧ) являются перспективными носителями лекарственных молекул и генотерапевтических препаратов, обеспечивая их накопление в тканях-мишенях. Способность МНЧ разогреваться под действием переменного магнитного поля может быть использована для контролируемого высвобождения лекарства с их поверхности (Yu Qing Meng et al., 2024).

Для создания эффективной системы доставки требуется детальное изучение ее биораспределения в опухоли, взаимодействия с опухолевыми клетками и клетками микроокружения. Важнейшей задачей остается изучение воздействия МНЧ на клетки внутри живой системы на молекулярном уровне, включая влияние на экспрессию генов, внутриклеточные сигнальные пути и метастазирование (Evan P. Stater et al. 2021).

Цель исследования – изучить противоопухолевую активность систем доставки докосорубицина на основе МНЧ оксида железа Fe_3O_4 in vivo при воздействии переменного магнитного поля.

Материалы и методы. МНЧ оксида железа, модифицированные силоксановой оболочкой, полиэтиленгликолем и доксорубицином (Fe_3O_4-SiO_2-PEG-Dox) были синтезированы в ИОС УрО РАН (Екатеринбург). Исследование выполняли на модели рака молочной железы 4T1-Luc2 у мышей BALB/c (n=35). Fe_3O_4-SiO_2-PEG-Dox вводили внутриопухолево с последующим воздействием переменным магнитным полем (27 мТл, 230 кГц, TOR Ultra HT). В ходе исследования оценивали динамику роста первичного опухолевого узла и рассчитывали индекс торможения роста опухоли (ТРО). Метастатическую активность оценивали по наличию и количеству метастазов в легких с использованием окрашивания гистологических срезов (гематоксилином и эозином, антителами к пан-цитокератину), рассчитывали показатель торможения метастазирования (ТМ) и индекс ингибирования метастазирования (ИИМ). Для изучения механизмов противоопухолевой активности МНЧ проводили гистологический и иммуногистохимический анализ опухолевой ткани, оценивали накопление и распределение частиц (окраска по Перлсу), уровень пролиферации (Ki67), апоптоз (Cleaved Caspase-3), некроз (окраска гематоксилином и эозином), ангиогенез (CD31), окислительный стресс (NOS2) и экспрессию белка теплового шока (HSP70).

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что МНЧ Fe_3O_4-SiO_2-PEG-Dox эффективно накапливались и распределялись в ткани опухоли 4T1-Luc2. Применение переменного магнитного поля после внутриопухолевого введения МНЧ приводило к замедлению роста опухоли. Гистологический и иммуногистохимический анализ выявил снижение пролиферативной активности опухолевых клеток. Одновременно наблюдалось увеличение уровня апоптоза клеток и появление участков некроза в опухоли, установлены изменения экспрессии маркера ангиогенеза (CD31) и белка теплового шока HSP70. Важным результатом стало обнаружение значительного уменьшения количества и размеров метастазов в легких экспериментальных животных, что указывает на антиметастатический потенциал МНЧ Fe_3O_4-SiO_2-PEG-Dox при сочетанном применении с переменным магнитным полем.

Заключение. Модифицированные наночастицы Fe_3O_4-SiO_2-PEG-Dox обладают противоопухолевой активностью и подавляют метастазирование у мышей с опухолью 4T1-Luc2. Изученные наночастицы перспективны в качестве платформы для систем доставки противоопухолевых лекарств и генотерапевтических препаратов.

ДИНАМИКА ЭЛИМИНАЦИИ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ ХИМИОЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ АНАЛЬНОГО РАКА

DYNAMICS OF HUMAN PAPILLOMA VIRUS ELIMINATION AFTER CHEMORADIATION THERAPY FOR ANAL CANCER

Зыкова Т.А., Гусарева М.А., Соловова Е.А., Франциянц Е.М., Толмачева Е.А., Кошелева Н.Г., Солнцева А.А., Зинькович М.С.
E-mail: tatiana2904@yandex.ru

ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия

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

Цель работы – изучить динамику элиминации ДНК ВПЧ из ткани остаточной опухоли после проведения химиолучевой терапии (ХЛТ) анального рака.

Материал и методы. Обследовали 28 больных с плоскоклеточным АР, в т.ч. 26 женщин (57,1±8,8 лет) и 2 мужчин (55±9,5 лет). Все пациенты получали радикальную ХЛТ, прошли лечение без перерывов с умеренными явлениями лучевых реакций. Противовирусную терапию не проводили. Мазки с поверхности опухоли отбирали до проведения ХЛТ, в день ее окончания, через 3, 6, 9 и 12 месяцев от ХЛТ. Для определения ДНК ВПЧ использовали набор реагентов «АмплиСенс® ВПЧ ВКР генотип-титр-FL».

Результаты исследований. Непосредственно перед началом ХЛТ все больные были ВПЧ-позитивными. В виде моно-инфекции вирус обнаружен у 73,5%, микст-инфекции у 26,5% больных. Медиана вирусной нагрузки (ВН) составила 5,41 lg копий ДНК ВПЧ/10^5 клеток, у 83,9% больных ВН превышала 3 lg копий ДНК ВПЧ/10^5 клеток. 16 тип ВПЧ в виде моно и/или микст-инфекции был обнаружен у 82,4% больных, 18 тип у 17,6%, 45 и 56 типы у 5,9% каждый, 31, 39, 52, 59 и 68 типы у 2,9% больных каждый.

Сразу после окончания ХЛТ ВПЧ-позитивными оставались 60,0% больных, через 3 месяца – 40,9%, 6 месяцев – 31,3%, 9 месяцев – 25,0%, 12 месяцев – 25,0% больных. Быстрый вирусологический ответ (БВО – исчезновение или снижение вирусной нагрузки более, чем на 2 lg копий по завершении ХЛТ) наблюдали у 46,4% больных АР, медленный вирусологический ответ (МВО – полное исчезновение ВПЧ через 3 или 6 месяцев после ХЛТ) у 14,3%, отсутствие вирусологического ответа (ОВО – у 21,4%, вирусологический прорыв (ВП – повторное появление ВПЧ) у 17,9% больных.

Полный клинический ответ (ПКО), оцениваемый в 6 месяцев, был достигнут у 71,4% больных. При этом у больных с БВО полный клинический ответ развивался чаще, чем с ОВО (84,6% против 33,3%, p=0,046) и МВО (100% против 33,3%, p=0,071), а 3-летняя бессобытийная выживаемость была выше, чем у всех остальных (86,4% против 46,7%, p=0,043), чем с ВП (84,6% против 20%, p=0,022) и у больных с ОВО (84,6% против 33,3%, p=0,046). ВП всегда предшествовал развитию клинического рецидива.

Заключение. Существующие протоколы ХЛТ анального рака не позволяют полностью элиминировать ВПЧ. Исчезновение или снижение вирусной нагрузки ВПЧ мы наблюдали только в период до 9 месяцев после ХЛТ. Обследованная когорта больных различалась как по скорости, так и стойкости развития вирусологического ответа (ВО), который, в свою очередь, влиял на развитие ПКО и 3-летнюю бессобытийную выживаемость. Больные с наличием ВО чаще достигали ПКО и отличались более высокой 3-летней бессобытийной выживаемостью. Стойкий ВО может быть предиктором эффективности ХЛТ анального рака, а ВП, напротив, предиктором раннего рецидива. Для подтверждения потенциальной роли ДНК ВПЧ в ткани остаточной опухоли в качестве биомаркера раннего выявления прогрессирования заболевания при АР необходимо дальнейшее накопление данных.

ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ, СВЯЗАННЫХ С ОПУХОЛЕВЫМ МИКРООКРУЖЕНИЕМ АДЕНОКАРЦИНОМ РАСПРОСТРАНЕННЫХ ЛОКАЛИЗАЦИЙ: НАБЛЮДАТЕЛЬНОЕ КОГОРТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Зяблицкая Е.Ю., Головкин И.О., Сеферов Б.Д., Алиев К.А.
E-mail: evgu79@mail.ru

Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского, г. Симферополь, Россия

Введение. Исследование полиморфизмов функционально значимых ассоциаций генов, ответственных за микроокружение карцином, является актуальным подходок к изучению как фундаментальных механизмов онкогенеза, так и (при сопоставлении с молекулярно-биологическим исследованием экспрессии белков, кодируемых ими) в разработке подходов к таргетной терапии рака (Rebuzzi F et al. 2023, Куликов Е.П. и соавт. 2022). Наиболее частыми локализациями являются колоректальный рак (КРР) и рак молочной железы (РМЖ), а также аденокарциномы органов женской репродуктивной системы (Каприн А.Д., 2024).

Цель исследования. Изучить полиморфизмы генов, связанных с опухолевым микроокружением аденокарцином распространенных локализаций: колоректальный рак, рак молочной железы, рак яичников (РЯ) в популяции пациентов жителей Республики Крым

Материалы и методы. Нами выполнено наблюдательное когортное исследование однонуклеотидных полиморфизмов генов VEGF; eNOS; HIF1A; ITGA2; IL28B_1; MMP12; MMP9; IL6; TP53. Выборку составили жители Республики Крым возраста 35–77 лет, поступившие в онкологические стационары с морфологически верифицированными аденокарциномами толстой кишки (n=113), молочной железы (n=52), яичника (n=45). Группу сравнения составили здоровые добровольцы, число которых несколько превышало выборку основной группы (122 – для КРР, 55 – для РМЖ и РЯ). На биоматериале ДНК, полученной от лиц указанной выборки, выделенной из парафиновых блоков тканевого опухолевого материала, методом полимеразной цепной реакции проведено генотипирование по полиморфным локусам VEGF (rs3025039, rs2010963, rs2146323, rs699947), eNOS (rs1799983, rs2070744, rs1549758), HIF1A (rs11549465), ITGA2 (rs1126643), IL28B_1 (rs12979860, rs8099917), MMP12 (rs652438), MMP9 (rs17576), IL6 (rs1800795), TP53 (rs1042522).

Результаты и обсуждение. Проведенный анализ частоты соответствующих генотипов у пациентов с наличием верифицированного КРР позволил установить достоверные ассоциации для двух из пятнадцати изучаемых полиморфизмов – rs2146323 VEGFA, rs3025039 VEGFA. Установлено, что носительство аллеля А полиморфизма rs2146323 гена VEGFA и аллеля Т полиморфизма rs3025039 VEGFA ассоциировано с риском развития КРР. Носительство генотипа СС полиморфизма rs1126643 ITGA2 ассоциировано с риском развития РМЖ и РЯ. Носительство генотипа СС полиморфизма rs11549465 HIF1A ассоциировано с риском развития РМЖ. Носительство генотипа GG полиморфизма rs2010963 VEGF оказывает протективный эффект при РЯ. Полиморфизм rs1042522 TP53 ответственен за риск развития РЯ.

Заключение. Генные полиморфизмы в крымской популяции пациентов rs2146323 и rs3025039 VEGFA ассоциированы с риском развития КРР, rs11549465 HIF1A и rs1126643 ITGA2 – с риском развития РМЖ, rs1126643 ITGA2 и rs1042522 TP53 – с риском РЯ.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России государственного задания FZEG-2023-0009 «Изучение гетерогенности микроокружения опухоли как фактора ее агрессивности и резистентности к терапии».

CNA-МАРКЕРЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ ХИМИОТЕРАПИИ ПРИ ЛЮМИНАЛЬНОМ В РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

CNA MARKERS OF PREOPERATIVE CHEMOTHERAPY EFFICACY IN LUMINAL BREAST CANCER

Ибрагимова М.К.[1,2], Кравцова Е.А.[1], Литвяков Н.В.[1,2]
E-mail: imk1805@yandex.ru

[1] НИИ онкологии Томского НИМЦ, г. Томск, Россия
[2] ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск, Россия

Введение. На сегодняшний день для пациентов с HER2-отрицательным (HER2-) раком молочной железы (РМЖ) доступно несколько методов лечения, однако, золотого стандарта лечения первой линии не существует. Антрациклин-содержащие схемы неоадъювантной химиотерапии (НХТ) одновременно считаются и традиционным системным лечением в качестве предоперационной химиотерапии для данной категории больных, и являются спорным решением в связи с высокой степенью токсичности и низким уровнем полного патоморфологического ответа.

Целью работы является изучение изменения CNA (copy number aberration) – генетического ландшафта опухоли молочной железы люминальногоВ HER2-негативного подтипа под действием антрациклин-содержащих схем НХТ для выявления потенциальных предиктивных маркеров объективного ответа на лечение и потенциальных прогностических маркеров возникновения гематогенного метастазирования.

Материал и методы. В исследование включено 35 больных люминальным В HER2-негативным РМЖ IIA-IIIB стадии. Все пациентки получали 4-8 курсов НХТ по схемам FAC/AC, CAX.

Для анализа аберраций числа копий (CNA) проводили микроматричный анализ на ДНК-чипах высокой плотности CytoScanTM HD Array (Affymetrix (USA)). Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ «Statistica 8.0» (StatSoft Inc., USA).

Результаты и обсуждение. При сравнении частот CNA в опухоли до лечения установлено, что наличие объективного ответа наблюдались при большом количестве делеций (78,3%) в 11q22.3 и 11q23.1 регионах (p=0,00238). Потенциально данные локусы могут выступать в качестве предиктивного маркера объективного ответа при применении в режиме НХТ антрациклин-содержащих схем лечения.

В результате сравнения частот встречаемости CNA после лечения показано, что возникновение гематогенного метастазирования наблюдалось при большем количестве амплификаций в 9p22.2 регионе (p=0,00229) и большем количестве делеций в 9p21.3 регионе (p=0,043). Потенциально данные локусы могут выступать в качестве прогностического маркера возникновения гематогенного метастазирования у данной группы больных.

При оценке показателей безметастатической выживаемости в зависимости от выявленных прогностических CNA-маркеров возникновения гематогенного метастазирования, получены статистически значимые результаты при наличии в опухоли амплификаций в 9p22.2 локусе (p=0,003) и делеций в локусе 9p21.3 (p=0,03).

Заключение. В результате выполнения представленного исследования были выявлены потенциальные предиктивные CNA-маркеры объективного ответа (делеции в 11q22.3 и 11q23.1 локусах) и прогностические CNA-маркеры возникновения гематогенного метастазирования (амплификации в 9p22.2 и делеции в 9p21.3 локусах) при применении в режиме предоперационной химиотерапии антрациклин-содержащих схем лечения для пациенток с люминальным В HER2- РМЖ.

Информация об источнике финансирования работы: работа поддержана грантом РНФ № 25-25-20045.

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ мРНК ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ НА ПЛОДНЫХ ОБОЛОЧКАХ ПРИ ДОНОШЕННОЙ БЕРЕМЕННОСТИ, ОСЛОЖНЕННОЙ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫМ РАЗРЫВОМ ПЛОДНЫХ ОБОЛОЧЕК

FEATURES OF EXPRESSION OF mRNA GENES OF PRO-INFLAMMATORY AND ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES ON FETAL MEMBRANES AT TERM PREMATURE RUPTURE OF MEMBRANES

Каганова М.А., Спиридонова Н.В.
E-mail: mkaganova@yandex.ru

ФГБУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Самара, Россия

Введение. Транскриптомный анализ при доношенной беременности в зависимости от целостности плодного пузыря позволяет изучить основные патогенетические механизмы экспрессии мРНК генов цитокинов при нарушении целостности плодных оболочек, что позволит своевременно выделить группы риска и разработать тактику ведения пациенток, в том числе и при недоношенной беременности.

Цель работы – оценить уровень экспрессии мРНК генов провоспалительных (ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-17А, ИЛ-18, ИЛ-23, TNFα, IFNg) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10, TGFβ) в плодных оболочках при доношенной беременности в зависимости от целостности плодного пузыря.

Материалы и методы. Проведено одномоментное одноцентровое исследование с 2017 по 2019 годы 40 беременных с доношенной беременностью: 24 из них вошли в основную группу и 16 – в контрольную. Критерии включения в исследование: одноплодная беременность, срок гестации 37,0–41,0 неделя без сопутствующей соматической патологии, обострения хронических и острых воспалительных заболеваний, акушерских осложнений (признаки плацентарной недостаточности, преэклампсии). Все пациентки были родоразрешены путем операции кесарево сечение: в плановом порядке (контрольная группа; показания: неправильное положение и предлежание плода, рубец на матке после операции) и в срочном порядке (основная группа; дополнительным показанием являлось преждевременный разрыв плодных оболочек). Уровень экспрессии мРНК генов ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-17А, ИЛ-18, ИЛ-23, TNFα, IFNg, ИЛ-4, ИЛ-10, TGF-β определялся методом ОТ-ПЦР (ООО «ДНК-технология»).

Результаты. Экспрессия мРНК генов ИЛ-1β, ИЛ-8, ИЛ-18, TNFα наблюдалась в 100% пациенток обеих групп. ИЛ-17 не определялся ни у одной пациентки; ИЛ-23 – у 29,2% основной группы и 18,8% контрольной группы, ИЛ-4 – 20,8% и 25,0% соответственно в следовых концентрациях. Экспрессия генов мРНК ИЛ-6 и IFN-γ наблюдалась несколько чаще: 66,7% и 70,8% в основной группе; 43,8% и 37,5% в контрольной. Значимые различия в группах были получены только для экспрессии мРНК генов ИЛ-8: 105,44 (23,7;648,93) ОЕ и 33,49 (20,0;116,6) ОЕ; и TGFβ 216,63 (129,5;329,9) ОЕ и 112,5 (36,7;182,4) ОЕ в основной группе и контрольной группе соответственно.

Заключение. При ПРПО на плодных оболочках основные изменения относятся к повышению ИЛ-8 в 3,1 раза (p=0,022), который обеспечивает миграцию иммунокомпетентных клеток, и TGFβ – в 1,9 раза (p=0,024), ответственного за эпителиально-мезенхимальный переход и истончение плодных оболочек.

РОЛЬ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ В ПОВЫШЕНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ АНТИПСИХОТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

THE ROLE OF PHARMACOGENETIC TESTING IN IMPROVING THE EFFICACY AND SAFETY OF ANTIPSYCHOTIC THERAPY

Кидяева А.В., Насырова Р.Ф.
E-mail: alla.kid@mail.ru

[1]Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и неврологии им В.М. Бехтерева, г. Санкт-Петербург, Россия
[2]Психиатрическая больница Св. Николая Чудотворца, г. Санкт-Петербург, Россия

Введение. Антипсихотики незаменимы в психиатрической практике. Но несмотря на появление новых поколений, проблема резистентности и нежелательных реакций остается нерешенной. Примерно четверть общей вариабельности ответа на антипсихотики имеет генетическое происхождение. Определение индивидуальных особенностей генотипа пациента возможно с помощью фармакогенетического тестирования (ФГТ).

Цель исследования – выявить наиболее распространенные генотипы, определяющие фармакокинетику антипсихотиков, у пациентов с недостаточным ответом на антипсихотическую терапию.

Материалы и методы. В исследование включено 110 пациентов европеоидной расы, проживающих в Санкт-Петербурге. У всех пациентов наблюдался недостаточный клинический ответ при антипсихотической терапии и/или развитие нежелательных реакций при лечении минимальными дозами антипсихотиков. Генотипирование образцов периферической крови проводилось методом ПЦР в реальном времени в Лаборатории молекулярно-генетической диагностики Института персонализированной психиатрии и неврологии ФГБУ «НМИЦ психиатрии и неврологии им. А.М. Бехтерева» Минздрава России.

Результаты и обсуждение. В исследовании принимали участие 57 женщин (51,8%) и 53 мужчины (48,2%). Возраст пациентов составил 38±13,8 лет. В исследуемой группе определены следующие генотипы: *CYP1A2* rs2069522 T/T – 106 (96,4%), T/C – 4 (3,6%); *CYP2C9* rs1799853 CC – 81 (73,6%), C/T – 28 (25,5%), T/T – 1 (0,9%); *CYP2C9* rs1057910 A/A – 100 (90,9%), A/C – 9 (8,2%), C/C – 1 (0,9%); *CYP2C19* rs4244285 G/G – 86 (78,2%), G/A – 22 (20%), A/A – 2 (1,8%); *CYP2C19* rs4986893 G/G – 109 (99,1%), G/A – 1 (0,9%); *CYP2C19* rs28399504 A/A – 110 (100%); *CYP2D6* rs4986774 A/A – 89 (100%); *CYP2D6* rs1065852 C/C – 91 (82,7%), C/T – 19 (17,3%); *CYP2D6* rs3892097 G/G – 89 (80,9%), G/A – 21 (19,1%); *CYP3A4* rs4987161 T/T – 110 (100%); *CYP3A4* rs28371759 T/T–103 (93,6%), T/C – 7 (6,4%); *CYP3A4* rs2740574 A/A – 100 (90,9%), A/G – 9 (8,2%), G/G – 1 (0,9%); *ABCB1* rs1045642 C/C – 25 (22,7%), C/T – 60 (54,6%), T/T – 25 (22,7%). Согласно результатам нашего исследования, низкофункциональные аллели не встречались в генотипах *CYP2C19* rs28399504, *CYP2D6* rs4986774, *CYP3A4* rs4987161. Среди пациентов с психическими расстройствами, не отвечающих в достаточной степени на антипсихотическую терапию и/или перенесших нежелательные реакции при приеме минимальных доз антипсихотиков, ФГТ позволило установить наиболее частое (77,3%) носительство нефункционального аллеля T rs1045642 гена *ABCB1*, кодирующего белок р-гликопротеин, осуществляющий транспорт антипсихотиков. В настоящее время это является серьезной проблемой, так как подавляющее большинство антипсихотиков являются или субстратами, или ингибиторами р-гликопротеина. Сложность заключается также в отсутствии или противоречивости информации о механизме транспорта большинства антипсихотиков, особенно нейролептиков первого поколения.

Заключение. Предварительное определение генотипа пациента с помощью ФГТ может позволить врачу предсказать эффективность и безопасность антипсихотической терапии, сократив тем самым прямые и косвенные затраты на лечение и повысив комплаенс пациента.

ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕТИКИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

FEATURES OF BREAST CANCER GENETICS

Кныш О.Е.[1], Кудрявцева Е.В.[2]
E-mail: knysh_oleg4@bk.ru

[1]*Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург, Россия*
[2]*Медико-генетический центр «Геномед», г. Екатеринбург, Россия*

Введение. Рак молочной железы (РМЖ) – наиболее распространенный вид онкологии среди женщин в мире. Значительную роль в онкогенезе РМЖ играют герминальные патогенные генетические варианты (ПГВ) в генах-кандидатах (5–10% случаев РМЖ по данным литературы), обнаружение которых часто определяет результативность противоопухолевой терапии и прогноз пациента. При этом в РФ чаще всего пациентки направляются лишь на анализ ПЦР на наличие «частых» вариантов *BRCA1, BRCA2,* секвенирование нового поколения (NGS), являющееся более информативным методом выявления значимых ПГВ используется редко.

Цель исследования – проанализировать встречаемость и структуру ПГВ в генах, ассоциированных с РМЖ, у пациенток с диагнозом РМЖ и здоровых женщин с онкологически отягощенным семейным анамнезом (ООСА) в России

Материалы и методы. В ретроспективное исследование включены результаты генетического тестирования 291 женщины (18–78 лет) по NGS-панели из 24 генов, ассоциированных с РМЖ на базе медицинского центра «Геномед». Участницы были разделены на 2 группы: с РМЖ (всех подтипов, локализаций и стадий) в настоящее время или в анамнезе – группа 1 (n=146), без РМЖ, но онкологически отягощенным семейным анамнезом (ООСА) – группа 2 (n=145).

Результаты и обсуждение. В группе 1 был выявлен 31 ПГВ (21,2%); в группе 2 – 12 ПГВ (8,3%). Возраст манифестации у пациенток с РМЖ и ПГВ был значимо ниже, чем у пациенток с РМЖ без ПГВ (39,3 против 44 лет), подтверждая высокий риск развития «наследственных» форм РМЖ именно у молодых пациенток (<40 лет) и оправдывая проведение генетического именно у молодых пациенток (≤40 лет). ПГВ чаще (в 2,58 раз, p=0,002) выявлялись в группе 1, значимо чаще (в 3,5 раза) встречались варианты со сдвигом рамки считывания, p=0,0026. Наиболее часто ожидаемо выявлялись ПГВ генов *BRCA1* (41,86%), *BRCA2* (27,9%) и *CHEK2* (18,6%). У пациенток с РМЖ ПГВ *BRCA1* (встречаемость в группе 1=8,9%) и *CHEK2* (4,8%) встречались чаще, p<0,03; разница во встречаемости *BRCA2* (5,5%) не была значима. Из всех выявленных в группе 1 ПГВ «частыми мутациями *BRCA1,2*» являлись лишь 6 (4,1% пациенток), демонстрируя, что чувствительность ПЦР в определении ПГВ в 5 раз ниже NGS. Определение ПГВ в *BRCA1,2* важно ввиду изменения «поведения» и фенотипа опухоли и возможности назначения терапии ингибиторами PARP. Встречаемость ПГВ *BRCA1,2* превалировала, при этом составляя лишь 48,8% всех выявленных ПГВ, показывая значимость генетического тестирования (ГТ) «за пределами» *BRCA*. Наиболее часто встречаемыми ПГВ были *BRCA1* c.5266dupC и *CHEK2* c.1100delC с равной встречаемостью среди участниц 1-й группы (2,7%). Помимо *BRCA1,2* и *CHEK2* ПГВ были обнаружены в *ATM, RAD51D, BARD1, MLH1, BRIP1* – по 1 случаю. У 8,3% женщин с ООСА были выявлен ПГВ, что в 8 раз выше общепопуляционных значений по *BRCA* и *CHEK2* – средний возраст проведения ГТ составил 44 года, что на 5 лет выше среднего возраста выявления РМЖ с ПГВ, вероятно ГТ пациенток с ООСА целесообразно до 40 лет. В 13 из 24 генов нами не было выявлено ни одного варианта, причем 10 из них являются генами со средней/низкой пенетрантностью, ставя под сомнение необходимость использования столь массивных панелей в генетическом тестировании РМЖ.

Заключение. Исследование демонстрирует распространенность генетических вариантов при РМЖ, клинические аспекты их выявления, а также преимущества и сложности использования NGS.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОСТРОГО И ХРОНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ПАТОЛОГИИ

MOLECULAR GENETIC FEATURES OF ACUTE AND CHRONIC CARDIOVASCULAR PATHOLOGY

Козлов Д.С.[1], Крылов Д.П.[1], Баданина Д.М.[1], Григорьева Н.Ю.[2], Кузнецова Д.С.[1]
E-mail: mail-kozlov2015@yandex.ru

[1]Институт регенеративной медицины Научно-технологического парка биомедицины, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), г. Москва, Россия
[2] Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород, Россия

Введение. Огромным препятствием для раннего выявления и создания эффективной таргетной терапии для лечения сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) является сложная, мультифакториальная природа этих заболеваний. Более того, многие из факторов риска, определённых в исследованиях второй половины XX века как ведущие факторы риска, в настоящее время снизили свою значимость за счёт изменения образа жизни и новых терапевтических инструментов. Таким образом, возникла потребность в переоценке взгляда на клинический фенотип пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, создании новых методов диагностики и лечения. В настоящее время изучение молекулярно-генетических характеристик крови пациентов с ССЗ считается перспективным методом для выявления процессов, лежащих в основе клинического фенотипа.

Цель работы – выявление комплекса молекулярно-генетических маркеров, характерных для крови больных с ишемической болезнью сердца молодого (младше 50 лет), среднего (51–60 лет) и старшего (старше 61 года) возраста без предшествующего коронарного анамнеза.

Материалы и методы. В работе были использованы образцы цельной крови пациентов с острыми и хроническими патологиями различных возрастов. Выявление аллелей, ассоциированных с риском развития ССЗ, проводили методом ПЦР с применением коммерческих аллель-специфичных зондов (СИНТОЛ, Россия). Анализ относительной длинны теломер был проведён методом ПЦР в режиме реального времени. Анализ уровня митохондриальной ДНК и экспрессии генов, ассоциированных с развитием кардиоваскулярных патологий, а также иммунологическим старением, воспалительным статусом был проведён методом ПЦР в режиме реального времени с использованием интеркалирующего красителя SYBR green.

Результаты. Молекулярный анализ позволил выделить маркеры острых и хронических ССЗ у пациентов различных возрастов. Показано, что полиморфизмы rs5985 гена FXIII-A и RS1799998 гена CYP11B2 могут быть потенциальными модификаторами риска развития ССЗ, однако, связь с возрастной группой, типом патологии и уровнем других маркёров не была обнаружена. Было подтверждено, что под воздействием ССЗ изменяется уровень мРНК 7 генов из 17 генов, выбранных на основании литературных данных. Для генов GPD1L и ARRB2 были выявлены изменения, связанные с фактором возраста. Уровень мРНК гена ABCB1, относительная длина теломер и уровень митохондриальной ДНК значительно отличаются между пациентами с острой и хронической патологией. С применением алгоритмов машинного обучения было показано, что внутри выборки пациентов выявляются 2 независимые группы, характеризующиеся разным уровнем мРНК генов IGF1R, ARRB2, LBR и FPR. Также кластеризация позволила выявить изменения в уровне мРНК генов IMPA2 и ST3GAL4.

Заключение. Выявление данных предикторов даёт возможность обнаружения лиц с высоким риском развития ишемической болезни сердца в молодом возрасте, которым требуется ранняя первичная профилактика.

ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫЙ ПОЛИТЕТРАФТОРЭТИЛЕН КАК СИСТЕМА ДОСТАВКИ ГЕНОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ МОЛЕКУЛ ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ СОСУДИСТЫХ ПРОТЕЗОВ

FUNCTIONALIZED POLYTETRAFLUOROETHYLENE AS A DELIVERY SYSTEM FOR GENE THERAPEUTIC MOLECULES IN IMPLANTATION OF VASCULAR PROSTHESIS

Коржова А.Г.[1], Лапуть О.А.[1,4], Ахмадеев Ю.Х.[2], Овчаренко Е.А.[3], Курзина И.А.[1,4]
E-mail: korzhova17@gmail.com

[1]Томский государственный университет, г. Томск, Россия
[2]Институт сильноточной электроники СО РАН, г. Томск, Россия
[3]НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово, Россия
[4]Сургутский государственный университет, г. Сургут, Россия

Введение. Сердечно-сосудистые заболевания представляют собой серьезную угрозу здоровью населения во многих странах мира, а их лечение требует комплексного подхода, включающего хирургические операции, протезирование и медикаментозную терапию. Нередки случаи осложнений после установки сосудистых имплантатов, такие как тромбоэмболия, неоинтимальная гиперплазия, хроническое воспаление, связанные с отсутствием эндотелиального монослоя на поверхности искусственных материалов. Для изготовления сосудистых имплантатов зарекомендовал себя политетрафторэтилен (ПТФЭ), в связи с чем актуален поиск способов его модифицирования для улучшения эндотелизации. Новые перспективы для повышения эффективности лечения и улучшения качества жизни пациентов с сосудистыми протезами открывает присоединение на поверхность имплантатов генетических молекул, способных стимулировать миграцию и пролиферацию эндотелиальных клеток. Первым этапом в достижении этой цели является создание поверхности, содержащей положительно заряженные химические группы для обеспечения электростатического связывания генетических молекул.

Цель исследования – изучение влияния дугового разряда азота на химический состав и биологические свойства политетрафторэтилена.

Материалы и методы. Образцы, изготовленные из сосудистой заплаты на основе ПТФЭ, подвергали воздействию плазмы (дуговой разряд в потоке азота) в течение 5, 10, 20 и 30 минут. Химический состав поверхности исследовали методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии, цитосовместимость и адгезию клеток оценивали на моделях моноцитарных макрофагов и эндотелиальных клеток человека соответственно.

Результаты и обсуждение. В результате плазменного воздействия на поверхность ПТФЭ присоединяются атомы азота, наибольшая концентрация наблюдается при обработке 20 и 30 минут (> 10,0 ат.%). Для этих образцов анализ фотоэлектронных спектров поверхности показал наличие химической связи между углеродом и азотом, соответствующей аминогруппам (~ 20,0 ат.% от всех типов связей). Жизнеспособность моноцитарных макрофагов на 6 сутки культивирования на поверхности ПТФЭ составила более 80%, при этом для образца, обработанного плазмой 30 минут, было обнаружено 95% живых клеток. Для этого же образца выявлено улучшение в 24,9 раз адгезии эндотелиальных клеток к поверхности.

Заключение. Разработанный способ поверхностного модифицирования ПТФЭ может стать основой для присоединения генотерапевтических молекул, направленных на улучшение интеграции сосудистого имплантата, стимулирование регенерации окружающих имплантат тканей и предотвращение негативных последствий протезирования.

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда научно-технологического развития Югры в рамках научного проекта № 2023-05-01.

БИОМАРКЕРЫ ОТВЕТА НА ХИМИОЛУЧЕВУЮ ТЕРАПИЮ ПРИ ОПУХОЛЯХ ГОЛОВЫ И ШЕИ

BIOMARKERS OF RESPONSE TO CHEMORADIOTHERAPY IN HEAD AND NECK TUMORS

Кравцова Е.А.[1,2], Цыганов М.М.[1,3], Гаптулбарова К.А.[1,2], Цыденова И.А.[1,2], Долгашева Д.С.[1,2], Шагабудинова А.К.[1,3], Литвяков Н.В.[1,2], Ибрагимова М.К.[1,2,3]
E-mail: zdereva.e@gmail.com

[1]НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН, г. Томск, Россия
[2]Томский государственный университет, г. Томск, Россия
[3]Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

Введение. В структуре онкологической заболеваемости опухоли головы и шеи (ОГШ) находятся на седьмом месте по распространенности среди всех злокачественных новообразований (ЗНО). На сегодняшний день при построении тактики лечения пациентов с ОГШ отдается предпочтение лучевой и химиолучевой терапии (ХЛТ) для уменьшения исходного поражения и контроля послеоперационного периода. Каждая опухоль имеет свой уникальный патоморфологический профиль. В свою очередь, молекулярно-генетические отличия могут влиять на проведение ХЛТ, что определяет изменение экспрессии различных генов, являющихся предикторами ответа на проводимое лечение.

Целью работы является выявление биомаркеров ответа на химиолучевую терапию при ОГШ.

Материалы и методы. Проведен анализ научной литературы по базе данных PubMed и GoogleScholar по выбранной теме за последние 5 лет.

Результаты. Согласно собственным и литературным данным выявлены маркеры плоскоклеточного рака головы и шеи. Показано, что высокая экспрессия гена EGFR после применения ЛТ является негативным прогностическим фактором, что обуславливает пониженную восприимчивость к химиолучевой терапии. При этом, ВПЧ-положительные опухоли головы и шеи обладают более высокой химио- и радиочувствительностью, что делает ВПЧ наиболее сильным прогностическим маркером. Однако, мутации гена NOTCH1 связаны с худшей выживаемостью при ВПЧ-положительном плоскоклеточном раке ротоглотки (ПРРГ), занимающим четвертое место среди опухолей головы и шеи, а амплификации гена SOX2 связаны с худшей общей выживаемостью при ВПЧ-негативном ПРРГ именно после проведения ХЛТ.

Увеличение экспрессии CXCL8 (интерлейкин-8) связано с повышением устойчивости к лечению радиотерапией. Кроме того, экспрессия SDF-1 и CXCR4 могут запускать различные механизмы устойчивости к облучению.

В литературе на сегодняшний день встречаются данные о связи низкой экспрессии гена BCL-xL с объективным ответом на проведение ХЛТ по сравнению с пациентами с высокий экспрессией данного гена.

Выводы. В результате представленного исследования были выявлены биомаркеры ответа на химиолучевую терапию при опухолях головы и шеи. Полученные данные имеют практическую значимость для оценки эффективности применения ХЛТ, что предполагает внесение изменений в тактику назначения лечения пациентам с ОГШ.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРИЧИНЫ РЕПРОДУКТИВНЫХ НЕУДАЧ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ЭУПЛОИДНЫХ ЭМБРИОНОВ

GENETIC CAUSES OF REPRODUCTIVE FAILURE WITH EUPLOID EMBRYOS

Кудрявцева Е.В.
E-mail: elenavladpopova@yandex.ru

ГАУДПО «Уральский институт управления здравоохранением им. А.Б. Блохина», Россия

Введение. Моногенные генетические варианты становятся все более значимой причиной неудач имплантации и раннего невынашивания беременности, особенно при использовании эуплоидных эмбрионов. Их вклад в патогенез репродуктивных потерь часто остается недооцененным.

Цель исследования – обобщить данные о роли моногенных генетических вариантов в случаях неудач ВРТ при использовании эуплоидных эмбрионов и представить клинический случай, иллюстрирующий такую ситуацию.

Материалы и методы. Проведен анализ научной литературы по теме моногенных генетических вариантов у женщин с ранними репродуктивными потерями. Описан клинический случай пациентки с бесплодием, у которой после многократных неудачных попыток ВРТ выявлен вариант гена *PADI6*.

Результаты и обсуждение. Современные исследования показывают, что генетические варианты в различных группах генов могут приводить к эмбриональной летальности, бесплодию и невынашиванию беременности даже при эуплоидном кариотипе эмбрионов. К таким генам относятся:

- гены, регулирующие эмбриогенез и клеточную пролиферацию (*KIF14, DYNC2H1, LDB1, DIDO1*), нарушения в которых препятствуют делению клеток и имплантации;
- гены ангиогенеза (*FLT1, EPHB4*);
- гены, кодирующие структурные белки и компоненты внеклеточного матрикса (*COL1A1, STIL*);
- гены, регулирующие эпигенетические процессы (*NLRP7, KHDC3L, ZFP57*);
- гены, влияющие на функции митохондрий (*GBE1, NUBPL*).

Одним из генов, критически важных для раннего эмбрионального развития, является *PADI6*. Он необходим для формирования субкортикального матрикса в ооците, стабилизации материнских РНК и нормального запуска зиготного геномного активирования.

У пациентки Т.В. с длительным анамнезом бесплодия и многократными безуспешными попытками ЭКО, включая переносы эуплоидных эмбрионов как ей, так и суррогатным матерям, выявлен патогенный вариант гена *PADI6*. Это позволило объяснить неэффективность использования собственных ооцитов и изменить подход к лечению – было рекомендовано использование донорских ооцитов.

Заключение. Генетические варианты, такие как в *PADI6*, могут быть причиной неэффективности ВРТ даже при использовании эуплоидных эмбрионов. Генетическое обследование женщин с идиопатическим бесплодием и неудачами ВРТ может иметь решающее значение для выбора тактики лечения.

БЕТА-АДРЕНОРЕАКТИВНОСТЬ ОРГАНИЗМА И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА БЕТА1-АДРЕНОРЕЦЕПТОРА У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА И РЕЗИСТЕНТНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

BETA-ADRENOREACTIVENESS OF THE ORGANISM AND EXPRESSION OF THE BETA1-ADRENORECEPTOR GENE IN PATIENTS WITH CHARGED HEART DISEASE AND ARTERIAL RESISTANT HYPERTENSION

Личикаки В.А., Муслимова Э.Ф., Реброва Т.Ю., Манукян М.А., Мордовин В.Ф., Зюбанова И.В., Хунхинова С.А., Андреев С.Л., Затолокин В.В., Афанасьев С.А., Фальковская А.Ю.
E-mail: manankovaler@mail.ru

НИИ кардиологии Томского НИМЦ, г. Томск, Россия

Введение. Хроническая активация адренергических рецепторов у пациентов с артериальной гипертензией (АГ) приводит к гипертрофии левого желудочка (ГЛЖ) с последующим развитием хронической сердечной недостаточности. Гиперсимпатикотония обуславливает десенситизацию β1-адренорецепторов (β1-АР), что косвенно может отражаться в изменении экспрессии гена ADRB1, кодирующего β1-АР, а также в повышении бета-адренореактивности (β-АРМ) мембран эритроцитов.

Цель исследования – провести комплексную оценку адренореактивности у больных резистентной АГ (РАГ) в сочетании с ишемической болезнью сердца (ИБС) во взаимосвязи с уровнем артериального давления (АД) и морфофункциональными изменениями миокарда левого желудочка (ЛЖ)

Материалы и методы. Проанализированы данные 52 пациентов с РАГ и ИБС (средний возраст 65 (60; 69) лет). Оценку адренореактивности проводили по данным анализа β-АРМ (наборы реагентов «Бета-АРМ-Агат»), инотропного потенциала стимуляции β1 и β2-АР миокарда правого предсердия, экспрессии гена ADRB1 в миокарде (образцы ушка правого предсердия, полученные во время плановой операции коронарного шунтирования) и лейкоцитах периферической крови (капельная цифровая ПЦР (система RainSure DropDx-2044HT (Китай), ЦКП «Медицинская геномика), измерение проводили относительно гена «домашнего хозяйства» глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (праймеры и TaqMan-зонды от ООО «ДНК-синтез», Россия), оценка- у 17 человек).

Результаты. Средние значения β-АРМ составили 25,6 (17,5; 38,3) усл.ед. У 36 (69%) больных он превышал референтные значения (более 20 усл.ед). Уровень экспрессии гена *ADRB1* в лейкоцитах соответствовал 0,005 (0,002; 0,007), в миокарде – 0,031 (0,018; 0,039). Линейная связь между экспрессией гена *ADRB1* в лейкоцитах и миокарде отсутствовала, как и между β-АРМ и экспрессией гена *ADRB1* в лейкоцитах и в миокарде. Значимых взаимосвязей этих показателей с уровнем АД и данными эхокардиографии (ЭхоКГ) не обнаружено. Установлены отрицательные связи инотропной реакции трабекул на стимуляцию β1-АР с массой миокарда (ММ) ЛЖ (r=-0,52; p=0,04) и уровнем среднесуточного (24ч) диастолического АД (r=-0,64; p=0,009), а при стимуляции β2-АР с размерами задней стенки ЛЖ (r=-0,50; p=0,04) и размерами левого предсердия. У больных с сохраненной фракцией выброса (ФВ) ЛЖ (n=10) обнаружена прямая связь инотропного ответа трабекул на стимуляцию β1-АР с ФВ ЛЖ (r=0,64; p=0,02). Из них группа со слабой реакцией на оба типа рецепторов (n=5) отличалась от группы с сильной реакцией (n=5) более высокими значениями АД (p =0,01 для САД-24, p=0,03 для САД-день и p=0,04 пульсового АД-24).

Заключение. Выявленные связи активности β-АР кардиомиоцитов с уровнями АД и ремоделированием сердца могут иметь существенное значение для понимания роли симпатической гиперактивации в механизмах повышения АД, формирования гипертензивной патологии миокарда и возрастания сосудистой жёсткости.

Информация об источнике финансирования работы: ФНИ 122020300183-4

ПОЛУЧЕНИЕ СИСТЕМ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ АЛЬГИНАТ НАТРИЯ СШИТОГО ДВУЗАРЯДНЫМИ КАТИОНАМИ

OBTAINING TARGETED DRUG DELIVERY SYSTEMS BASED ON SODIUM ALGINATE CROSS-LINKED WITH DOUBLE-CHARGED CATIONS

Лыткина Д.Н.[1,2], Садыков Р.Т.[1], Курзина И.А.[1,2]
E-mail: darya-lytkina@yandex.ru

[1]*Томский государственный университет, г. Томск, Россия*
[2]*Сургутский государственный университет, г. Сургут, Россия*

Введение. Использование альгината натрия в качестве систем доставки лекарственных средств может обеспечить ряд преимуществ, включая простоту приготовления, биосовместимость, биоразлагаемость и нетоксичность. Способность альгината натрия создавать комплексы посредством электростатических взаимодействий, химической модификации или сшивания может быть использована для создания гибридных и более универсальных систем доставки лекарств. Этот подход может способствовать более эффективному контролю высвобождения лекарств, белков и других биомолекул. Использование двузарядных катионов позволяет получать химически сшитые гидрогели.

Цель исследования – получение систем доставки лекарственных средств на основе альгината натрия и двузарядных катионов (Ca^{2+}, Mg^{2+}, Zn^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{2+}) и сравнительный анализ их физико-химических свойств и степень набухания.

Материалы и методы. Материалы были получены добавлением по каплям раствора альгината натрия (1 масс.%) в растворы хлоридов (Ca^{2+}, Mg^{2+}, Zn^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{2+}), полученные частицы геля были отделены от раствора декантацией и высушены при температуре 40 °C до постоянной массы.

Результаты и обсуждение. При попытке сшивания альгина натрия раствором $MgCl_2$, гелеобразования не происходило, поэтому материал был исключен из дальнейших исследований. Методом ИК спектроскопии установлено, что происходит смещение характеристической полосы, соответствующей колебаниям карбонильной группы альгинатов на 8–10 $см^{-1}$ в более коротковолновую область относительно альгината натрия, что обычно связано с геометрией молекулы, массой атомов, связанных с карбонильной группой, стерическими факторами, что свидетельствует о сшивании процессе химического сшивания геля и формировании структуры «egg-box». Степень набухания гелей увеличивался в ряду $Cu^{2+} < Fe^{2+} < Zn^{2+} < Ca^{2+}$, степень набухания существенным образом зависит от ряда внутренних (плотность сшивки, степень ионизации геля) и внешних (pH раствора, деформация) факторов.

Заключение. В ходе исследования было подтверждено, что альгинат натрия может быть эффективно использован для создания систем доставки лекарственных средств путем сшивания его двузарядными катионами. Эксперименты показали успешное образование гелей с Ca^{2+}, Zn^{2+}, Cu^{2+} и Fe^{2+}, подтвержденное смещением характеристической полосы карбонильной группы в ИК-спектрах, что указывает на формирование структуры «egg-box». В то же время, Mg^{2+} не проявил сшивающей способности. Установлено, что степень набухания полученных гелей, являющаяся важным параметром для контролируемого высвобождения лекарственных средств, варьируется в зависимости от используемого катиона и следует ряду $Cu^{2+} < Fe^{2+} < Zn^{2+} < Ca^{2+}$, что связано с влиянием как внутренних характеристик геля (плотность сшивки), так и внешних факторов. Полученные результаты подтверждают потенциал альгината натрия для разработки универсальных систем доставки лекарств с контролируемым высвобождением.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Фонда научно-технологического развития Югры в рамках научного проекта № 2024-536-05.

МОДУЛЯЦИЯ СИГНАЛИЗАЦИИ ИНСУЛИНА/IGF-1 В ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЕ СВЯЗАНА С АНТИСУИЦИДДНЫМИ ЭФФЕКТАМИ ПРИ МОНОПОЛЯРНОЙ ДЕПРЕССИИ

INSULIN/IGF-1 SIGNALING MODULATION IN PREFRONTAL CORTEX IS LINKED TO ANTISUICIDAL EFFECTS IN MDD

Мазо Г.Э.[1], Касьянов Е.Д.[1]

[1] *ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и неврологии им. В.М. Бехтерева» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия*

Введение. Суицид является одной из основных причин смертности во всем мире, однако фармакологические возможности для смягчения суицидальности остаются ограниченными. Клозапин и кетамин – одни из немногих малых молекул с хорошо задокументированными антисуицидными эффектами, хотя прямых доказательств, связывающих их молекулярную активность с генетикой суицидов, было немного.

Материалы и методы. В данном исследовании мы провели полнотранскриптомный ассоциативный анализ фенотипов, связанных с суицидом, в префронтальной коре (область Бродмана 9) у 172 пациентов с монополярной депрессией.

Результаты. После определения генетических маркеров, ассоциированных с суицидальным поведением, была спрогнозирована экспрессия данных маркеров. Далее с использованием SigCom LINCS L1000 были ранжированы малые молекулы по степени схожести индуцируемых ими изменений экспрессии. Как кетамин, так и клозапин оказались значительно приоритетными в этом анализе. Дополнительный анализ на уровне отдельных генов показал, что приоритет этих двух препаратов обусловлен снижением экспрессии рецепторного субстрата инсулина 2 (IRS2) – ключевого медиатора сигнализации IGF-1 и инсулина. Кроме того, соединения, повышающие экспрессию IRS2 (например, ингибиторы IGF-1, агонисты глюкокортикоидных рецепторов, а также ингибиторы PI3K и MTOR), продемонстрировали отрицательное обогащение при ранжировании.

Заключение. Эти наблюдения указывают на наличие общего механистического звена между транскрипционными ответами на кетамин и клозапин и генетическими маркерами, ассоциированными с самоубийством при монополярной депрессии.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 23-15-00347)

ПОИСК АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА GST С ИНДЕКСОМ МАССЫ ТЕЛА У ПАЦИЕНТОВ С ШИЗОФРЕНИЕЙ

SEARCH FOR ASSOCIATIONS OF POLYMORPHIC VARIANTS OF THE *GST* GENE WITH BODY MASS INDEX IN PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA

Меднова И.А.[1], Михалицкая Е.В.[1], Штернис Ю.В.[1], Корнетова Е.Г.[1], Иванова С.А. [1,2]
E-mail: i.mednova@yandex.ru

[1]НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, г. Томск, Россия
[2]Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

Введение. Шизофрения является тяжелым прогредиентным психическим расстройством с высоким риском инвалидизации, а также снижением ожидаемой продолжительности жизни. Пациенты с шизофренией относятся к группе риска развития метаболического синдрома и ожирения, что связано как с предрасположенностью, так и с нежелательными явлениями антипсихотической терапии. Метаболические нарушения приводят к увеличению риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, излишней стигматизации пациентов и усугублению основных симптомов шизофрении вследствие отказа от лечения. В качестве причин развития ожирения рассматривается окислительный стресс. Первой линией защиты от окислительного повреждения клеток и экзогенных токсических веществ является система глутатион-s-трансфераз (GST). Некоторые мутации в генах *GST* могут приводить к снижению активности фермента и соответственно к повышенной восприимчивости организма к процессам окислительного стресса.

Цель исследования. Изучить возможные ассоциации полиморфных вариантов генов *GSTP1* (rs614080 и rs1695) и *GSTO1* (rs4925) с индексом массы тела у больных шизофренией.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 639 пациентов с шизофренией (321 мужчина и 318 женщин, медиана возраст 39 лет, медиана длительности шизофрении 12 лет). Пациенты в зависимости от индекса массы тела (ИМТ) были разделены на три группы: пациенты с нормальной массой тела (≤24,9 кг/см^2) – 312 (52,8%) человек; с предожирением (25–29,9 кг/см^2) – 153 (25,9%) человек; и с ожирением (≥30 кг/см^2): – 126 (21,3%) человек. Генотипирование проводили методом ПЦР в реальном времени на амплификаторе QuantStudio 5 (Applied Biosystems, США; ЦКП «Медицинская геномика», Томский НИМЦ). Статистический анализ проводился с использованием программы R версии 4.0.4. Различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Мы выявили ассоциацию полиморфного варианта rs1695 *GSTP1* с ИМТ при коррекции на пол, возраст и курение. Носительство генотипа GG было связано с повышенным риском развития предожирения (ОШ 2.23; 95% ДИ: 1.19-4.21, $p = 0,018$). Также у носителей генотипа GG отмечали повышение жировой складки на животе, по сравнению с пациентами-носителями генотипа AA ($p = 0,04$). По данным биоинформатического анализа, обнаружен отрицательный эффект аллеля G в отношении экспрессии *GSTP1* в висцеральной и подкожной жировой ткани. Также выявлена его связь с гиперметилированием этого гена, что обусловливает низкую транскрипционную активность у носителей миорного аллеля *GSTP1* G.

Заключение. Таким образом, обнаружена ассоциация полиморфизма rs1695 гена GSTP1 с избыточной массой тела у больных шизофренией. Полученные данные согласуются с гипотезой о важной роли дисфункции антиоксидантной системы в развитии метаболических нарушений при шизофрении.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-75-10088, https://rscf.ru/project/23-75-10088/

ИЗМЕНЕНИЕ ПРОФИЛЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ НЕКОТОРЫХ ЦИТОКИНОВ В ХОДЕ НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

CHANGES IN THE EXPRESSION PROFILE OF SOME CYTOKINE GENES DURING NEOADJUVANT POLYCHEMOTHERAPY FOR CERVICAL CANCER

Меньшенина А.П.[1], Зыкова Т.А. [1], Златник Е.Ю. [1], Соловова Е.А. [1], Франциянц Е.М. [1], Моисеенко Т.И. [1], Меньшенина В.А. [2]
E-mail: tatiana2904@yandex.ru

[1]ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия
[2]ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва, Россия

Введение. Известна роль иммунного микроокружения в канцерогенезе и опухолевом росте, его значение для реализации эффекта лечения, в т.ч. включающего иммунные препараты.

Цель исследования – сравнить изменения уровня экспрессии некоторых генов иммунного ответа и воспаления на тканевом уровне при проведении неоадъювантной полихимиотерапии (НАПХТ) местнораспространенных ВПЧ-ассоциированных форм рака шейки матки (ВПЧ + МРРШМ).

Материалы и методы. Исследовали биоптаты ткани опухоли у 48 больных ВПЧ+ МРРШМ до и на этапах терапии. Из них 20 проведена стандартная НАПХТ по схеме цисплатин и блеомицин (группа 1), 28 – НАПХТ того же режима в сочетании с плазмаферезом и индуктором интерферона (ПА+НАПХТ+ИИФН, группа 2). В группу сравнения вошли 32 больных с миомой матки, у которых исследовали биоптаты интактной ткани шейки матки. Относительный уровень экспрессии генов, кодирующих синтез IL1B, IL10, IL18, TNFA, TLR4, GATA3, CD68 в сравнении с референс-геном B2M, а также соотношение перечисленных параметров определяли методом ПЦР-РВ с использованием набора «ИммуноКвантекс».

Результаты. В образцах ткани опухоли, взятых до начала НАПХТ, уровень относительной экспрессии генов превышал показатели группы сравнения по IL-1β на 59,2%, соотношению TNF-α/IL-18 в 9,3 раза, IL-10/IL-18 в 10,5 раз, IL-1β/CD68 в 37,8 раз ($p<0,05$), что указывает на развитие локальной воспалительной реакции. После лечения в группе 1 отличия от группы сравнения регистрировали по тем же показателям (рост по IL-1β на 69,0%, TNF-α - на 22,0%, соотношение TNF-α/IL-18 – 4,75раза, IL-10/IL-18 - в 4,75раз, IL-1β/CD68 - в 75,9 раз, $p<0,05$). В группе 2 отличия с группой сравнения выявлены только по соотношению IL-1β/CD68 - рост в 23,9 раз и TNF-α/IL-18 - в 12,8 раз ($p<0,05$). Эти результаты могут говорить об увеличении экспрессии генов IL-1β и TNF-α, что предполагает увеличение продукции соответствующих цитокинов, способных определять эффекты проводимой терапии, связанные с активацией клеток врожденного иммунитета. По окончании курса лечения в группе 1 по сравнению с исходным фоном наблюдали тенденцию к повышению IL-1β/CD68 на 101% и снижение TNF-α/IL-18, IL-10/IL-18 на 49% и 55%. Изменения относительных уровней экспрессии IL-1β, IL-18, TLR4, CD68, TLR4/GATA3 (повышение) и IL-10, TNF-α, GATA3 (снижение) по сравнению с фоном были не значимы ($p>0,05$). В группе 2 после лечения выявили повышение относительных уровней экспрессии TLR4/GATA3 на 55% и, наоборот, снижение IL-10/IL-18 на 55% ($p<0,05$) по сравнению с фоном. При сравнении 1 и 2 групп между собой, в финале терапии соотношение TNF-α/IL-18 в группе 2 было на 170% больше, чем в группе 1, а IL-1β/CD68, напротив, меньше на 69%.

Заключение. Проведение терапии с включенными в неё ПА и ИИФН, за счёт иммуномодулирующей активности последних, вызывает положительные изменения локального иммунитета по сравнению с немодифицированной НАПХТ, по-видимому, за счет его перепрограммирования с превалированием противоопухолевой активности над проопухолевой, что находит отражение в изменении экспрессии соответствующих генов.

ГЕНОМНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПРЕДИКТОРОВ РАЗВИТИЯ И ПРОГНОЗА ТЕЧЕНИЯ РАКА ЛЕГКОГО

GENOMIC STUDIES FOR DETECTION OF DEVELOPMENT AND PROGNOSIS PREDICTORS OF LUNG CANCER

Михаленко Е.П.[1], Щаюк А.Н.[1], Станкевич Ю.С.[1], Шепетько М.Н.[2], Кильчевский А.В.[1]
E-mail: michalenko75@mail.ru

[1] *Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь*
[2] *Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Республика Беларусь*

Введение. Рак легких представляет собой серьезную проблему для общественного здравоохранения из-за высоких показателей заболеваемости и смертности. Понимание молекулярных механизмов развития и метастазирования опухоли способствует разработке новых диагностических и терапевтических подходов.

Цель исследования – изучить вклад генетических и эпигенетических нарушений, выявленных с использованием таргетного высокопроизводительного секвенирования, в развитие и течение немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ).

Материалы и методы. В исследование включены 165 пациентов с НМРЛ. Исследование мутационного статуса опухоли выполнялось методом высокопроизводительного секвенирования с использованием панелей TruSeq Amplicon - Cancer Panel, AmpliSeq for Illumina Cancer Hotspot Panel v2 и AmpliSeq for Illumina Focus Panel. С применением технологии таргетного бисульфитного ПЦР-секвенирования (TBPseq) проанализировано метилирование CpG сайтов промоторных областей генов-супрессоров опухоли и протоонкогенов в опухолевой и неопухолевой ткани легкого. Полученные данные подвергали биоинформатическому анализу, обработанные данные сопоставляли с GRCh38. Анализ данных метилирования произведен алгоритмом Bismark. Для изучения выживаемости использовали регрессионную модель пропорциональных рисков Кокса.

Результаты и обсуждение. При анализе CpG сайтов промоторов 15 генов были получены данные о метилировании 291 позиций и выделены значимые различия частот метилирования CpG-регионов в опухолевой и неопухолевой тканях. Метилирование CpG-сайтов в позиции 112706953 на хромосоме 5 (ген *APC*), в позиции 22009566 на хромосоме 9 (ген *CDKN2B*), в позиции 129466294 на хромосоме 10 (ген *MGMT*) в позициях 2140215 и 2140257 на хромосоме 11 (ген *IGF2-3*) и в позиции 51029437 на хромосоме 18 (ген *SMAD4*) могут рассматриваться как маркеры опухолевого процесса в ткани легкого и использоваться как дополнительный критерий в диагностике.

В исследованной когорте у пациентов с аденокарциномой (АК) превалируют мутации в генах *ERRB4* (42%), *TP53* (38%), *EGFR* (21%) и *KRAS* (28%), а у пациентов с плоскоклеточным раком легкого (ПКРЛ) – мутации в генах *TP53* (75%), *ATM* (20%) и *PIK3CA* (18%).

Выявлены статистически значимые ассоциации соматических мутаций в генах *CSF1R, KRAS, IDH1, CDH1, STK11* с выживаемостью пациентов с АК и ПКРЛ. У пациентов с аденокарцимой общая выживаемость ниже у носителей мутаций G12C гена *KRAS* (p=0,039) и S940* гена *CSF1R* (p=0,037), по сравнению с пациентами имеющими нормальную форму этих генов. У пациентов с плоскоклеточным раком легкого общая выживаемость ниже у носителей мутаций V392T гена *CDH1* (p=0,027), R82K гена *IDH1* (p=0,028) и D53Tfs*11 гена *STK11* (p=0,028), по сравнению с пациентами имеющими нормальную форму этих генов.

Заключение. Таким образом, детекция генетических и эпигенетических характеристик опухоли у пациентов с НИРЛ является необходимым инструментом диагностики заболевания, а также повышает точность прогнозирования выживаемости.

Работа выполнялась при финансовой поддержке НАН Беларуси и Союзного государства России и Беларуси.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ И ПРОЯВЛЕНИЯ АГРЕССИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ ПРИ АФФЕКТИВНЫХ РАССТРОЙСТВАХ

POLYMORPHISM OF NEUROTROPHIC FACTOR GENES AND MANIFESTATIONS OF AGGRESSIVE BEHAVIOR IN AFFECTIVE DISORDERS

Михалицкая Е.В., Падерина Д.З., Вялова Н.М., Рощина О.В., Симуткин Г.Г.
E-mail: uzen63@mail.ru

НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, г. Томск, Россия

Введение. Нейротрофические факторы регулируют структурную, синаптическую и морфологическую пластичность, модулируя интенсивность или количество синаптических связей и нейротрансмиссию. Данные на животных моделях и клинические исследования свидетельствуют о том, что нарушение регуляции нейротрофических факторов может играть важную роль в этиологии аффективных расстройств. Одним из вариантов проявления неблагоприятного течения аффективного расстройства является аутоагрессия и суицидальная активность, как ее крайнее проявление. Существует гипотеза о том, что изменение экспрессии нейротрофических факторов может быть также связано и с проявлениями агрессивного поведения у животных, а также у человека.

Цель исследования – изучение ассоциации полиморфных вариантов генов нейротрофических факторов с проявлением агрессивного поведения у пациентов с аффективными расстройствами.

Материалы и методы. В исследовании принимали участие 235 пациентов с текущим депрессивным эпизодом (МКБ-10: F31, F32, F33). Оценка типов и уровня агрессии проводилась при помощи опросника Басса-Дарки (Buss-Durkee Hostility Inventory, BDHI). Исследование проводилось на базе ЦКП Томского НИМЦ «Медицинская геномика». ДНК выделялась из цельной венозной крови с использованием фенол-хлороформного метода. Проведено генотипирование 5 полиморфных вариантов генов нейротрофических факторов (*BDNF*: rs7124442, rs11030104, rs7103411; *NGF*: rs6330 и *NRG1*: rs3924999) методом ПЦР в реальном времени с использованием наборов фирмы ДНК-синтез (Россия) на амплификаторе QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, США). Статистическая обработка результатов произведена с помощью программы Statistica 12.

Результаты и обсуждение. При исследовании проявлений агрессии в зависимости от носительства генотипов полиморфных вариантов генов нейротрофических факторов получены статистически значимые результаты. Так, у пациентов с генотипом rs11030104*GG гена *BDNF* показатели «раздражительность» и «подозрительность» согласно шкале BDHI оказались значимо ниже ($\chi2$=6,996, p=0,030 и $\chi2$=7,725, p=0,021, соответственно), по сравнению с носителями AG и AA генотипов. Для полиморфного варианта rs3924999 гена *NRG1* выявлены ассоциации генотипа AA с более низкими баллами «враждебности» ($\chi2$=13,086, p=0,001) и «подозрительности» ($\chi2$=7,938, p=0,019), чем у носителей AG и GG генотипов. Других ассоциаций изучаемых полиморфных вариантов генов нейротрофических факторов с проявлениями агрессивного поведения у пациентов с аффективными расстройствами не обнаружено.

Заключение. В данной работе показана ассоциация полиморфных вариантов rs11030104 гена *BDNF* и rs3924999 гена *NRG1* с баллами различных проявлений агрессивного поведения у пациентов с аффективными расстройствами.

Работа поддержана грантом РНФ № 23-15-00338 «Сравнительное изучение роли иммуновоспаления и нейропротекции в патогенезе и клинике аффективных расстройств и алкогольной зависимости».

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА В1-АДРЕНОРЕЦЕПТОРА (ADRB1) И В-АДРЕНОРЕАКТИВНОСТЬ ПРИ НАРУШЕНИЯХ РИТМА СЕРДЦА В ДЕТСКОМ ВОЗРАСТЕ

B1-ADRENORECEPTOR (*ADRB1*) GENE EXPRESSION AND B-ADRENOREACTIVITY IN CHILDHOOD CARDIAC RHYTHM DISORDERS

Муслимова Э.Ф., Реброва Т.Ю., Свинцова Л.И., Якимова Е.В., Афанасьев С.А.
E-mail: muslimovef@yandex.ru

НИИ кардиологии Томского НИМЦ, г. Томск, Россия

Введение. Среди сердечно-сосудистой патологии у детей и подростков наиболее распространены нарушения ритма сердца, при этом наблюдается увеличение их частоты. В регуляции работы сердца важнейшая роль принадлежит балансу между симпатическим и парасимпатическим отделами вегетативной нервной системы и функционированию β-адренорецепторного аппарата клеток. Преобладание симпатической активности приводит к жизнеугрожающим нарушениям ритма и рассматривается как независимый фактор риска внезапной сердечной смерти. При этом сниженная β-адренореактивность организма является компенсаторно-адаптивным механизмом, но может способствовать дальнейшему нарушению систолической функции сердца.

Цель исследования – оценить β-адренореактивность организма у детей с нарушениями ритма сердца на основании β-адренореактивности мембран эритроцитов и уровня экспрессии гена β1-адренорецептора.

Материалы и методы. В исследование включено 37 пациентов в возрасте 13 (11; 15) лет. У 12 человек выявлена желудочковая экстрасистолия (ЖЭС), у 15 - феномен Вольфа-Паркинсона-Уайта (WPW), у 10 – атриовентрикулярная узловая реципрокная тахикардия (АВУТ). Группу сравнения составили 13 здоровых детей. Показатель β-адренореактивность мембран эритроцитов (β-АРМ) определяли в цельной крови с помощью набора реагентов «Бета-АРМ-Агат». Метод основан на изменении осмотической резистентности эритроцитов под влиянием β-адреноблокатора. В лейкоцитах периферической крови оценена экспрессия гена *ADRB1* с помощью капельной цифровой ПЦР с использованием системы RainSure DropDx-2044HT (Китай) ЦКП «Медицинская геномика». Праймеры и TagMan-зонды для целевого гена *ADRB1* и генов «домашнего хозяйства» глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы *GAPDH*, β-актина *ACTB* предоставлены ООО «ДНК-синтез» (Россия). Статистический анализ проводился с использованием критерия Манна-Уитни, уровень значимости различий $p < 0,05$.

Результаты. Дети с ЖЭС отличались от группы здоровых детей умеренно повышенной β-АРМ, т.е. сниженной β-адренореактивностью организма: 19,4 (16,8; 22,3) усл.ед. против 13,8 (9,7; 18,5) усл.ед., соответственно ($p = 0,041$). Однако в обеих группах β-АРМ находилась в пределах референсных значений до 20 усл.ед. При этом уровень экспрессии гена *ADRB1* у пациентов с ЖЭС был ниже ($p = 0,005$), чем у здоровых детей - 0,17 (0,12; 0,27) против 0,80 (0,52; 1,11).

Другие группы значимо не отличались от здоровых детей по β-АРМ: при феномене WPW она составила 17,3 (13,0; 21,6) усл.ед. ($p = 0,169$), при АВУТ – 15,2 (12,9; 16,3) усл.ед. ($p = 0,526$). Однако уровень экспрессии гена *ADRB1* у пациентов с феноменом WPW составил 0,07 (0,03; 0,26), что значимо ниже ($p = 0,001$), чем у здоровых детей. При АВУТ уровень экспрессии составил 0,07 (0,06; 0,66), но, несмотря на сниженное значение медианы, различия с группой сравнения не достигли статистической значимости ($p = 0,177$).

Заключение. Развитие желудочковой экстрасистолии в детском возрасте сопряжено с низкой β-адренореактивностью организма и меньшей экспрессией гена *ADRB1*. При феномене WPW оказалась снижена только экспрессия гена *ADRB1*.

Информация об источнике финансирования работы: ФНИ 122020300183-4

РАЗРАБОТКА ГЕТЕРОКЛЕТОЧНЫХ 3D-МОДЕЛЕЙ ПЕЧЕНИ ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ГЕНОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

HETEROCELLULAR 3D LIVER MODELS FOR TESTING ANTITUMOR GENE THERAPEUTIC DRUGS

Невская К.В., Ефимова Л.В., Першина А.Г., Удут Е.В.
E-mail: nevskayaksenia@gmail.com

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

Введение. Генотерпевтические лекарственные препараты (ГТЛП) представляют собой мощнейший инструмент для терапии широкого спектра генетических, онкологических и инфекционных заболеваний (Kitawi et al., 2024; Henderson et al., 2024; Youssef et al., 2025). В то же время специфические механизмы действия ГТЛП обуславливают особые требования к их тестированию. В частности, для корректного исследования необходимо воссоздать генетическое окружение и генетический ландшафт, характерные для клеток человека, в связи с видоспецифичностью действия препаратов данного класса (Eggers et al., 2021). Более того, ГТЛП способны проникать также в нецелевые клетки, что обуславливает потребность проведения исследований ГТЛП на моделях, включающих различные типы клеток. Таким образом, актуальным направлением является разработка гетероклеточных систем, состоящих из клеток человека, для тестирования токсичности и эффективности ГТЛП.

Цель исследования – разработка гетероклеточных 3D-систем печени для тестирования противоопухолевых (антиметастатических) генотерапевтических препаратов.

Материалы и методы. Гетероклеточные 3D модели были получены в форме сфероидов, с использованием силиконовых форм «MicroTissues Inc.» (США). Для моделирования печени в состав сфероидов включали гепатоциты (клетки линии Fa2N-4 или HepG2), фибробласты (клетки линии BJ-5ta или LX-2) и, в ряде экспериментов, M0-макрофаги, дифференцированные из моноцитов периферической крови здоровых доноров. Моделирование микрометастазов опухоли в печень проводили путем включения в состав сфероидов $CD44^{-}$ популяции дифференцированных клеток генетически-модифицированной клеточной линии T47D_Red, экспрессирующей красный флуоресцентный белок RFP. Для индукции дедифференцировки опухолевых клеток в часть лунок добавляли интерлейкин 6 (IL6) в конечной концентрации 50 нг/мл. В качестве прототипа ГТЛП была использована смесь микроРНК, ранее продемонстрировавшая свою эффективность в 2D системах *in vitro* и в экспериментах *in vivo* (Nevskaya et al., 2024). Для оценки динамики пролиферации опухолевых клеток T47D_Red, на 1, 2, 3, 5 и 7-е сутки гетеросфероиды анализировали с использованием сканирующего флуоресцентного микроскопа Leica DMi8 (Германия). Жизнеспособность клеток в составе гетеросфероидов подтверждали на 7 сутки культивирования путем окрашивания витальным красителем Calcein AM.

Результаты и обсуждение. С использованием модельных 3D гетероклеточных систем печени была продемонстрирована эффективность прототипа ГТЛП на основе микроРНК для ингибирования роста микрометастазов рака молочной железы. В частности, в контрольных лунках наблюдалось увеличение количества клеток рака молочной железы в составе гетеросфероида, что свидетельствовало о дедифференцировке $CD44^{-}$ клеток T47D_Red под действием цитокина-индуктора (IL6) и их пролиферации с образованием вторичных опухолевых очагов. В то же время, при добавлении смеси микроРНК пролиферации опухолевых клеток не происходило. Важно отметить, что клетки в составе гетеросфероида сохраняли свою жизнеспособность в течение 7 суток культивирования.

Заключение. Таким образом, нами получены гетероклеточные 3D-модели печени, обеспечивающие повышение эффективности скрининга противоопухолевых ГТЛП, за счет более точного воспроизведения микроокружения раковой клетки.

НЕЙРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ И НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫЕ АСПЕКТЫ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

NEUROINFLAMMATORY AND NEURODEGENERATIVE ASPECTS OF PARKINSON'S DISEASE: CURRENT STATUS AND PROSPECTS

Никитина М.А.[1], Брагина Е.Ю.[2], Иванова С.А.[1,3], Назаренко М.С.[1,2], Бойко А.С. [3], Левчук Л.А.[3], Алифирова В.М. [1]
E-mail: nikitina_ma@mail.ru

[1]ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск, Россия
[2]НИИ медицинской генетики, ТНИМЦ РАН, г. Томск, Россия
[3]НИИ психического здоровья, Томский ТНИМЦ РАН, г. Томск, Россия

Введение. В основе болезни Паркинсона (БП) лежит α-синуклеинопатия, которая приводит к гибели дофаминергических нейронов в среднем мозге. Помимо пожилого возраста, который является известным фактором риска заболевания, дегенерации нейронов также способствуют факторы окружающей среды и генетическая предрасположенность [Иллариошкин С.Н. 2022]. Результаты проведенных исследований доказывают, что нейровоспаление и способствующий ему окислительный стресс являются частью патофизиологического пути БП. Однако, в настоящее время остается нерешенным вопрос, играет ли оно решающую роль в патогенезе заболевания, ухудшая течение и ускоряя его прогрессирование [Marogianni C. 2020]. Воспалительные маркеры могут отражать роль нейровоспаления в нейродегенеративном процессе при БП.

Цель исследования – оценить клинические, молекулярно-генетические особенности и уровень воспалительных маркеров CCL5, slCAM-1, sVCAM-1, NCAM, PAI-1 и MPO в группах пациентов с БП на различных стадиях БП по Хен-Яр.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 533 пациента с БП. Всем пациентам было проведено клиническое неврологическое исследование с определением стадии БП, степени выраженности двигательных нарушений по MDS-UPDRS, и нейропсихологическое тестирование с использованием валидизированных опросников: МоСА-теста, HADS, BDI-II, шкалы тяжести усталости (Fatigue Severity Scale, FSS). Геномная ДНК была выделена из лейкоцитов периферической крови стандартным методом фенол – хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфных вариантов генов CCL5 (rs2107538) и PAI-1 (rs2227631) методом ПЦР в режиме реального времени на анализаторе LightCycler 480 (Roche Diagnostics, Germany) с использованием зондов TaqMan выполнено с помощью коммерческих наборов (кат. номер NP-2107538 и NP-2227631, ДНК-Синтез, г. Москва). 144 пациентам с БП выполнено исследование концентрации в сыворотке крови группы воспалительных маркеров (CCL5, slCAM-1, sVCAM-1, NCAM, PAI-1 и MPO) на мультиплексном анализаторе MAGPIX (Luminex, USA) с применением xMAP® Technology.

Результаты и обсуждение. Установлено, что уровни slCAM-1, sVCAM-1, CCL5 и NCAM в сыворотке крови изменяются у пациентов с БП в зависимости от стадии по Хен-Яр и продолжительности заболевания. Выявлены корреляции уровней сывороточных маркеров как между собой, так и в сравнении с моторными и немоторными нарушениями, которые свидетельствуют о системном воспалительном профиле, когда повышенное периферическое производство CCL5, slCAM-1, sVCAM-1, NCAM, PAI-1 и MPO может играть роль в нейродегенеративном процессе.

Заключение. Уровень маркеров воспаления CCL5, slCAM-1, sVCAM-1, NCAM, PAI-1 и MPO в сыворотке крови у пациентов с БП изменяется в зависимости от стадии прогрессирующего нейродегенеративного процесса, что указывает на важность системного воспаления в течение БП.

РЕПАРАЦИЯ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК В КУЛЬТУРАХ ГЕПАТОМЫ ЧЕЛОВЕКА HEPG2 И HUH7 ПРИ НАРУШЕНИИ ФУНКЦИИ НИБРИНА

DNA DAMAGE REPAIR UPON DISRUPTION OF NIBRIN FUNCTION IN HUMAN HEPATOMA CELL LINES HEPG2 AND HUH7

Озерова Д.Д.[1], Кривцова О.М.[1], Кустова И.Ф.[1], Шавочкина Д.А.[1], Кудашкин Н.Е.[1], Патютко Ю.И.[1], Дьякова Н.А.[1], Лазаревич Н.Л.[1,2]
E-mail: o.krivtsova@ronc.ru

[1]ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, г. Москва, Россия
[2]ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова», г. Москва, Россия

Введение. Согласно последним данным, в российской популяции по сравнению с общемировой выборкой по сведениям gnomAD повышена частота встречаемости герминативной делеции c.657_del5 гена NBN, гипоморфной мутации, гомозиготное носительство которой связано с развитием синдрома Неймегена (0,28% против 0,02%), а также полиморфизма rs61754966 T>C, обусловливающего замену p.I171V в домене нибрина BRCT-1 (0,95% против 0,14%), которая, вероятно, препятствует привлечению MRN-комплекса, субъединицей которого является нибрин, в места двунитевых разрывов ДНК [*БД ФМБА России; Кривцова и соавт., 2024*]. Повышение частоты встречаемости аллеля p.I171V гена NBN до 1,12% было выявлено нами в выборке из 447 пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой (ГЦК). Роль нибрина и его генетических нарушений в патогенезе ГЦК на сегодняшний день остается малоизученной.

Цель исследования – оценить влияние нокаута гена NBN, а также последующей экзогенной экспрессии аллеля NBN p.I171V (mutNBN) на способность клеток культур гепатомы человека HepG2 и Huh7, мутантной по p53, к репарации повреждений ДНК.

Материалы и методы. В работе использовали культуры с нокаутом гена NBN методом геномного редактирования с помощью системы CRISPR/Cas9 (NBN$^-$), а также их производные, экспрессирующие нибрин дикого типа (wtNBN) или mutNBN. Повреждения ДНК индуцировали инкубацией с 20 мкМ блеомицина в течение 3 часов с последующей репарацией разрывов в течение суток. Выживаемость клеток относительно контрольных культур в этих условиях не различалась. Блокировку цитокинеза при микроядерно-цитомном анализе проводили инкубацией с 3 мкг/мл цитохалазина B в течение 24 часов.

Результаты и обсуждение. Нокаут гена NBN в клетках HepG2 приводит к повышению уровня маркера двунитевых разрывов γH2A.X после внесения повреждений ДНК по сравнению с контролем. В клетках Huh7-NBN$^-$ аналогичный эффект не наблюдается. По результатам микроядерно-цитомного анализа, в клетках HepG2-NBN$^-$ и Huh7-NBN$^-$ повреждение ДНК приводит к увеличению доли клеток с микроядрами, что указывает на повышение частоты хромосомных аберраций. По результатам включения 5-BrdU, доля пролиферирующих клеток через сутки после обработки блеомицином в культуре HepG2-NBN$^-$ снижена в 2 раза, тогда как в мутантных по p53 клетках Huh7-NBN$^-$ на 10% выше, чем в контроле. Экзогенная экспрессия mutNBN в клетках HepG2-NBN$^-$ вызывает восстановление ДНК-синтетической активности и способности к репарации до уровня контрольной культуры. В клетках Huh7-NBN$^-$ доля клеток в S-фазе после репарации и уровень γH2A.X сопоставимы с контрольными, тогда как доля клеток с микроядрами остается повышенной.

Заключение. Инактивация NBN снижает способность клеток HepG2 и Huh7 к репарации повреждений ДНК, а также, вероятно, приводит к ослаблению механизмов активации чекпоинтов клеточного цикла, на что указывает повышение ДНК-синтетической активности в клетках Huh7, мутантных по p53. Мутация p.I171V не оказывает значительного влияния на способность клеток культур HepG2 и Huh7 к репарации и их последующее продвижение по клеточному циклу.

АНАЛИЗ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ХЕМОКИНОВ CCL2, CX3CL1 У ПАЦИЕНТОВ С АЛКОГОЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТЬЮ

ANALYSIS OF POLYMORPHIC VARIANTS OF CHEMOKINE GENES *CCL2, CX3CL1* IN PATIENTS WITH ALCOHOL USE DISORDER

Падерина Д.З.[1], Михалицкая Е.В. [1], Вялова Н.М. [1], Рощина О.В. [1], Симуткин Г.Г. [1], Бохан Н.А. [1]
E-mail: osmanovadiana@mail.ru

[1]НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, г. Томск, Россия

Введение. Хроническое употребление алкоголя вызывает иммуномодулирующие эффекты, которые могут приводить к стимуляции иммунных клеток к секреции и активации путей периферических про- и противовоспалительных цитокинов. Острое и умеренное употребление алкоголя связано с подавлением воспалительных реакций, тогда как хроническое злоупотребление алкоголем индуцирует создание нейровоспалительной среды.

Цель исследования – изучение полиморфных вариантов генов хемокинов *CCL2* и *CX3CL1* и содержания их белков в периферических мононуклеарных клетках у пациентов с алкогольной зависимостью.

Материалы и методы. В группу пациентов с алкогольной зависимостью (МКБ-10: F10.2) был включен 201 человек. Контрольную выборку составили 205 здоровых лиц. Пациентам было проведено обследование с использованием психометрических шкал обсессивно-компульсивного употребления алкоголя (Obsessive Compulsive Drinking Scale, OCDS) и шкалы оценки ангедонии Снайта-Гамильтона (Snaith-Hamilton Pleasure Scale, SHAPS). Молекулярно-генетическое исследование проводилось на базе ЦКП «Медицинская геномика» Томского НИМЦ. Генотипирование полиморфных вариантов генов хемокинов *CCL2* (rs4795893, rs2530797) и *CX3CL1* (rs170364) проводили методом ПЦР в реальном времени с использованием набора реагентов ДНК-Синтез (Россия). Экспрессию белков исследуемых генов в мононуклеарных клетках периферической крови оценивали с использованием набора Magnetic Lumine Assay Kit (Cloud-Clone Corp., Китай).

Результаты и обсуждение. Выявлена ассоциация генотипа GG варианта rs4795893 гена *CCL2* с более выраженным симптомом ангедонии (SHAPS) при поступлении в клинику (p=0,029), тогда как носительство гомозиготного генотипа по аллелю A (rs4795893) ассоциировано с более выраженным патологическим влечением к алкоголю (OCDS) (p=0,034). Статистически значимых различий в распределении частот генотипов и аллелей исследуемых полиморфных вариантов генов *CCL2, CX3CL1* между больными алкоголизмом и контрольной группой обнаружено не было. Уровень *CCL2* в периферических мононуклеарных клетках пациентов до лечения был статистически значимо выше, чем в контрольной группе (p=0,001), и не снижался в процессе терапии.

Заключение. Алкоголь-опосредованная дисрегуляция иммунной системы является потенциальным механизмом, влияющим на созревание/выживание нейронов, что приводит к возрастанию риска расстройств, связанных с употреблением алкоголя. В нашем исследовании была показана связь исследуемого гена хемокина *CCL2* с расстройством употребления алкоголя.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-15-00338, https://rscf.ru/project/23-15-00338/

ЭРИТРОПОЭЗСТИМУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ АНТОЦИНАСОДЕРЖАЩЕГО КОМПЛЕКСА ИЗ *ARONIA MELANOCARPA* (MICHX.) ELLIOTT НА ФОНЕ ГИПОПЛАТИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ГЕМОПОЭЗА, ИНДУЦИРОВАННОГО ХИМИОТЕРАПИЕЙ

ERYTHROPOIESTIMULATING ACTIVITY OF ANTHOCIN-CONTAINING COMPLEX FROM ARONIA MELANOCARPA (MICHX.) ELLIOTT ON THE BACKGROUND OF HYPOPLATIC STATE OF HEMOPOIESIS INDUCED BY CHEMOTHERAPY

Рыбалкина О.Ю.[1,2], Андреева В.Ю.[2], Чайковский А.В.[1], Федорова Е.П.[1,2], Селиванова Н.С.[1,2]
E-mail: olgatomsk87@gmail.com

[1]*НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ, г. Томск, Россия*
[2]*Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия*

Введение. Одной из наиболее распространенных видов гематологической токсичности при химиотерапии является анемический синдром. В настоящее время существует ряд препаратов-корректоров, снижающих гематотоксичность цитостатических препаратов. Однако, такие средства обладают рядом побочных эффектов. Поэтому актуальной задачей онкофармакологии является поиск новых высокоэффективных и безопасных соединений с целью создания на их основе препаратов, повышающих эффективность и/или снижающих токсическое воздействие химиотерапии на эритроидный росток кроветворения. Интересным в этом плане могут быть антоцианы, перспективным источником которых является арония черноплодная (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott).

Цель исследования – оценить возможность снижения с помощью антоциансодержащего комплекса из плодов *A. melanocarpa* (АСК) токсичности доксорубицина на эритроидный росток кроветворения.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на мышах-самках линии C57Bl/6. Карциному лёгких Льюис (LLC) перевивали внутримышечно по 1×10^6 клеток. В эксперименте использовали доксорубицин в дозе 6 мг/кг на 10 сут после перевивки опухоли. АСК вводили мышам в дозе 5 мл/кг ежедневно в течение 9 сут, начиная через 24 часа после инъекции цитостатика. Показатели периферической крови определяли на 3, 5, 7 сут после введения цитостатика стандартными гематологическими методами. Содержание КОЕ–Э, оценку эритропоэтической активности (ЭПА) в костном мозге мышей определяли методом клонирования *in vitro* в аналогичные сроки. Проведено исследование по определению концентрации эритропоэтина как в сыворотке крови, так и кондиционных средах костного мозга с помощью набора ELISA (Cloud-Clone Corp., США). Обработку полученных результатов проводили с использованием непараметрических критериев Вилкоксона–Манна–Уитни (U).

Результаты и обсуждение. Исследование миелограмм показало, что АСК стимулирует процессы восстановления преимущественно эритроидного ростка гемопоэза. Содержание эритробластов, базофильных нормобластов в костном мозге в группе мышей с опухолью, получавших АСК, на 3–7 сут превосходило значения в группе получавших доксорубицин животных. Наблюдалось достоверное увеличение КОЕ-Э в 2,6 и 1,7 раза на 5 и 7 сут после введения цитостатика На 3–7 сут после введения цитостатика совместно с АСК наблюдалось усиление ЭПА в клетках костного мозга. На 7 сут отмечено достоверное увеличение содержание эритропоэтина как в сыворотке, так и кондиционной среде.

Заключение. АСК из *A. melanocarpa* обладает эритропоэзстимулирующей активностью на фоне использования доксорубицина.

Исследования проводились в рамках исполнения государственного задания Министерства науки и высшего образования России по теме FGWM-2022-0017.

ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ВЕЗИКУЛЫ КАК ПЛАТФОРМА ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРМОРАДИОХИМИОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ПРЯМОЙ КИШКИ

EXTRACELLULAR VESICLES AS A PLATFORM FOR PREDICTING THE EFFECTIVENESS OF THERMORADIOCHEMOTHERAPY IN RECTAL CANCER PATIENTS

Сваровский Д.А. [1,2], Юнусова Н.В. [1,2], Панфилова П.А.[2], Старцева Ж.А.[1], Великая В.В.[1]
E-mail: Svarovsky.d.a@gmail.com

[1]НИИ онкологии Томский НИМЦ, г. Томск, Россия
[2]Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

Введение. Одним из возможных подходов к решению проблемы повышения эффективности терморадиотерапии и гипертермии в комплексной терапии рака может быть поиск молекулярных маркеров, связанных с ответом опухоли на лечение. Циркулирующие внеклеточные везикулы (ВВ) являются важными участниками формирования микроокружения опухоли. Они могут интернализироваться (поглощаться) широким спектром клеток, модулируя воспалительный ответ в опухоли, запуская дифференцировку стволовых и прогениторных клеток, формируя преметастатические ниши.

Цель исследования – проанализировать потенциал белков и miRNA ВВ в качестве предикторов непосредственной эффективности терморадиохимиотерапии (ТРХТ) у больных раком прямой кишки

Материалы и методы. В исследование были включены 40 больных раком прямой кишки (РПК) III стадии, получивших ТРХТ по разработанным клиническим протоколам. Забор крови для выделения ВВ выполнялся в динамике лечения. Состав ВВ проанализирован проточной цитометрии, а уровень ассоциированных с радиорезистентностью микроРНК – RT-PCR.

Результаты. Выявлены 4 популяции ВВ (как CD9-позитивных, так и FABP4-позитивных), содержащие матриксные металлопротеиназы (MMPs) и их ингибитор TIMP1, которые были ассоциированны с непосредственной эффективностью терморадиохимиотерапии (ТРХТ) у больных РПК. Для прогнозирования непосредственной эффективности ТРХТ был выполнен регрессионный анализ в двух вариантах: в первом варианте в качестве предикторов в модель были включены клинические параметры (пол, возраст, Grade, показатели метаболического статуса), субпопуляции ВВ и уровни микроРНК, во втором варианте – клинические параметры и уровни микроРНК ВВ до лечения.

В первом варианте уравнение регрессии имело вид F = 0,126 * [ИМТ] – 1,170* [CD9+MMP9+] – 0,387 * [CD9+MMP2+MMP9+TIMP1+] + 3,041 * [FABP4+MMP2+MMP9+TIMP1+] + 5,689 * [FABP4+MMP2-MMP9+TIMP1+] – 30,878, где в качестве переменных в модели используются индекс массы тела, 2 субпопуляции CD9-позитивных и 2 субпопуляции FABP4-позитивных ВВ. Далее по формуле рассчитывалась P – вероятность полной клинико-морфологической регрессии опухоли с учетом значения регрессионной функции. Оценка чувствительности и специфичности модели составила 83,3% и 70%, соответственно. Во втором варианте показатели чувствительности и специфичности созданной регрессионной модели были ниже аналогичных показателей регрессионной модели представленной выше.

Выводы. Состав ВВ в сочетании с расчетом индекса массы тела позволяет прогнозировать непосредственную эффективность ТРХТ у больных РПК за 3 месяца до окончания лечения.

ИЗУЧЕНИЕ ЧАСТОТЫ И СПЕКТРА МУТАЦИЙ ГЕНА KRAS У ПАЦИЕНТОВ НОВОСИБИРСКА И НСО С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

STUDY OF THE FREQUENCY AND SPECTRUM OF *KRAS* GENE MUTATIONS IN NOVOSIBIRSK AND NOVOSIBIRSK REGION PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER

Семаев С.Е., Субботовская А.И., Алешкевич Н.П., Бредихин Д.А.
E-mail: sse281985@yandex.ru

НКДЦ ФГБНУ ФИЦ ФТМ, г. Новосибирск, Россия

Введение. Рост заболеваемости колоректальным раком (КРР) является одной из основных проблем общественного здравоохранения. КРР представляет собой гетерогенную группу злокачественных опухолей, отличающихся особенностями патогенеза, течением болезни и прогнозом. Знания о молекулярных характеристиках КРР необходимы для реализации персонализированной терапии.

Цель исследования – изучение частоты и спектра мутации гена *KRAS* у пациентов г. Новосибирска и НСО с КРР в зависимости от локализации процесса.

Материалы и методы. Молекулярно-генетические исследования по изучению статуса гена *KRAS* по послеоперационному и/или биопсийному материалу у пациентов с КРР, обследованных за период с 01.01.2022 г. по 05.04.2024 г. (450 человек, мужчины : женщины 0,47 : 0,53, средний возраст 61,6±11,3 лет, проводили в лаборатории патоморфологии и молекулярной генетики Научно-клинического диагностического центра ФГБНУ «Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины» (ФИЦ ФТМ). У всех пациентов диагноз рака ободочной и прямой кишки был поставлен после полного клинико-рентгенологического исследования, подтверждено патологоанатомическим исследованием. Экстракцию ДНК проводили, используя наборы (ExtractDNA FFPE» (Евроген, РФ). ПЦР проводили в амплификаторе CFX96 Touch (Bio-Rad Laboratories, США) в соответствии с рекомендацией производителя наборов RAS-RT50 (EntroGen, США), «Real-time-PCR-KRAS-7M» (Биолинк, РФ), «Тест-KRAS-ткань» (ТестГен, РФ). Статистическая обработка результатов производилась с помощью программы Microsoft Excel. Для выявления взаимосвязи между категориальными переменными использовался критерий Пирсона ($\chi 2$).

Результаты и обсуждение. Из 450 включенных в исследование пациентов количество человек с левосторонним КРР составило 379 (84,2%), с правосторонним 70 (15,5%), при сочетанной локализации – 1 (0,3%). Мутации в гене *KRAS* при левостороннем КРР обнаружены у 120 человек (27%), спектр по экзонам: 101 (94%) в экзоне 2, из них G12A – 6 (5,0 %), G12C – 15 (12,5 %), G12D – 28 (23,3 %), G12R – 2 (1,7 %), G12S – 5 (4,2 %), G12V – 28 (23,3 %), G13D – 11 (9,2 %), без дифференцировки – 18 (15,0 %); 2 (1,7 %) в экзоне 3 и 5 (4,1%) в экзоне 4. У пациентов с правосторонним КРР мутации обнаружены в 59% случаев (41 человек) в экзоне 2, из них G12A – 2 (4,9 %), G12C – 1 (2,4 %), G12D – 7 (17,1 %), G12S – 4 (9,8 %), G12V – 11 (26,8 %), G13D – 6 (14,6 %), без дифференцировки – 10 (24,4%), у пациента с сочетанием лево- и правостороннего рака мутация обнаружена в G13D экзона 2 (0,8 %).

Заключение. Частота встречаемости мутации в гене *KRAS* пациентов НСО при правостороннем КРР статистически значимо выше, чем при левостороннем (59% vs 27%, $p < 0,001$).

Работа выполнена при поддержке ЦКП «Протеомный анализ».

ЧАСТОТА ПОДТВЕРЖДЕНИЯ HER2-ПОЗИТИВНОГО СТАТУСА МЕТОДОВ FISH ПОСЛЕ СОМНИТЕЛЬНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ МЕТОДОМ ИММУНОГИСТОХИМИИ

HER2-POSITIVE FISH CONFIRMATION RATE AFTER INDETERMINATE IMMUNOHISTOCHEMISTRY RESULTS

Синявская А.М., Павлов В.С., Субботовская А.И.
E-mail: an.sadykova@yandex.ru

ФГБНУ ФИЦ Фундаментальной и трансляционной медицины, г. Новосибирск, Россия

Введение. Одной из наиболее актуальных проблем современной онкодиагностики остаётся вопрос HER2neo-статуса злокачественных новообразований. Существующая таргетная терапия, нацеленная на HER2, значительно улучшает общую выживаемость и состояние больных с раком молочной железы. Однако, для точной и правильной диагностики HER2-позитивных опухолей необходимо использовать большой объём трудозатратных методов исследований, имеющихся в арсенале современных медико-генетических лабораторий.

В настоящее время статус HER2 исследуется преимущественно при помощи иммуногистохимии (ИГХ), которая является наиболее быстрым и экономичным методом. При сомнительном результате ИГХ (2+) для уточнения статуса HER2 проводится гибридизация in situ (флуоресцентная или хромогенная). Эти методы позволяют точно определить наличие гиперамплификации гена HER2. Согласно литературным данным, после проведения ISH увеличение количества копий этого гена подтверждается в 10–20% случаев рака молочной железы с сомнительным результатом ИГХ. Однако, эти цифры могут варьироваться в зависимости от лаборатории, методики и популяции пациентов.

Цель исследования – определить вероятность выявления HER2-положительного статуса эпителиальных опухолей молочной железы методом FISH при сомнительных результатах иммуногистохимического исследования.

Материалы и методы. Материалом для исследования явились гистологические препараты (FFPE-блоки) пациентов с диагнозом «рак молочной железы» (n=46). При исследовании HER2-статуса материала данных пациентов методом иммуногистохимии был получен результат 2+, что интерпретируется, как «сомнительный» и рекомендуется проведение ISH для уточнения статуса. Были подготовлены срезы с тех же самых парафиновых блоков толщиной 2,5 мкм, выполнено FISH-исследование определения уровня амплификации гена HER2 относительно центромеры хромосомы 17 (CEP17) (HealthCare, KHP). Использовался стандартный протокол пробоподготовки парафинизированных срезов тканей (ООО «МДЛ»). Готовые препараты исследовались на флуоресцентном микроскопе Zeiss AxioVision M2.

Результаты и обсуждение. Результаты локального исследования совпадают с ожидаемыми результатами и подтверждают литературные статистические данные. В нашей работе показано, у 15% (7/46) исследованных случаев с сомнительными результатами после ИГХ подтверждается положительный HER2-статус после FISH-исследования. Среднее соотношение сигналов по выборке методом FISH при HER2(+) составило 6,5, а при HER2(-) 1,2. Полисомия хромосомы 17 встречалась в 12% случаев.

Заключение. Данные, полученные в рамках локального исследования, согласуются с общемировыми статистическими данными, у 15% случаев, с сомнительным результатом HER2 по ИГХ методом FISH была подтверждена гиперамплификация гена HER2.

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Протеомный анализ», поддержанного финансированием Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2021-691).

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ РАКА ЖЕЛУДКА

MOLECULAR GENETIC FEATURES OF PERSONALIZED GASTRIC CANCER THERAPY

Спирина Л.В.[1,2], Августинович А.В.[2], Баркышева А.А.[1], Богданова В.А.[1], Афанасьев С.Г.[2]
E-mail: spirinalvl@mail.ru

[1]НИИ онкологии Томского НИМЦ, г. Томск, Россия
[2]Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

Введение. Рак желудка занимает третье место в мире по уровню смертности среди злокачественных опухолей различных локализаций. В настоящее время активно изучаются биологические особенности опухолей желудка.

Цель исследования заключалась в изучении молекулярно-биологические особенности опухолей и их связь с эффективностью лечения

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 46 пациентов с раком желудка, проходивших лечение в клиниках НИИ онкологии Томского НИМЦ. Экспрессию молекулярных маркеров оценивали с помощью ПЦР в реальном времени. Генетический ландшафт опухоли исследовали с помощью таргетного секвенирования ключевых онкогенов и онкосупрессоров. Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 12.0.

Результаты и обсуждение. Была обнаружена связь распространённости опухоли и наличия регионарных метастазов с наличием мутации TP53. Выявлено, что у пациентов с положительным статусом HER2 чаще встречаются мутации гена TP53, а положительный статус PD-L1 ассоциирован с различными единичными мутациями в опухолях. Лучший ответ на лечение наблюдался у пациентов без мутаций, у которых происходила регрессия опухоли: у 33% – полная регрессия, у 64% – частичная. У пациентов с единичными мутациями в 75% случаев наблюдалась частичная регрессия, у остальных опухоль стабилизировалась после лечения. У пациентов с двойными и тройными генетическими вариантами целевых генов регрессия была зафиксирована в 33% случаев, что в два раза ниже. Результаты исследования показали, что у пациентов с положительным статусом PD-L1 в ткани опухоли наблюдалось снижение экспрессии 4EPB1, c-RAF и PDK1 в 2,5 раза. Отмечено снижение экспрессии VHL и содержания белка LC3B в 2,0 и 4,5 раза, соответственно.

После проведения неоадъювантной терапии наблюдалось снижение экспрессии 4EBP1 в 2,2 раза в ткани опухоли, а также увеличение экспрессии VEGF в 7,25 и CAIX в 5,1 раза. Также, было выявлено изменение экспрессии 4EBP, mTOR и AMPK в зависимости от эффекта терапии в группах пациентов с полной регрессией, частичной регрессией, стабилизацией и прогрессированием заболевания. Отмечена ассоциация с содержанием индуктора аутофагии Beclin-1, который повышался в 1,4 раза у пациентов со стабилизацией опухолевого процесса по сравнению с пациентами с частичной регрессией опухоли.

При наличии мутации *TP53* было отмечено увеличение экспрессии VEGFR2 в 2,8 раза, PD-L1 в 4 раза и PD-L2 в 2 раза, уменьшение уровня VHL в 4,0 раза и мРНК PD-1 в 2 раза. При наличии мутации *PIK3CA* (chr3:g.178952085A>G chr3:g.178936091G>A) наблюдалось 5,6-кратное увеличение экспрессии PD-1, а при наличии мутации PTEN – 3,5-кратное увеличение экспрессии mTOR и снижение уровня мРНК VEGFR2 в 3,3 раза. Также отмечено, что при наличии мутации *PIK3CA* (chr10:g.89653814C>T) снижалась экспрессия NF-kB p65 и PDK1.

Заключение. Таким образом, пациенты без известных онкогенных маркеров показали наилучший ответ на лечение и полную регрессию. Биологические свойства опухолей могут быть изменены значительными генетическими маркерами, которые влияют на эффективность противоопухолевого лечения. Выявленные факты согласуются с представлениями о вкладе транскрипционных, ростовых факторов и компонентов внутриклеточного сигналлинга в процессы опухолевой прогрессии.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ СЫВОРОТКИ КРОВИ ДЛЯ ПОИСКА МАРКЕРОВ ПРЕЭКЛАМПСИИ

QUANTITATIVE PROTEOMIC PROFILING OF MATERNAL BLOOD SERUM FOR BIOMARKER DISCOVERY IN PREECLAMPSIA

Стародубцева Н.Л.[1], Полуэктова А.А.[1], Бугрова А.Е.[1,2], Бржозовский А.Г. [1,3], Кононихин А.С. [1,3], Николаев Е.Н. [3]
E-mail: n_starodubtseva@oparina4.ru

[1]ФГБУ НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова Минздрава России, г. Москва, Россия
[2]Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва, Россия
[3]Сколковский институт науки и технологий, г. Москва, Россия

Введение. Преэклампсия (ПЭ) – тяжелое осложнение беременности, требующее ранней диагностики. Современные протеомные технологии открывают новые возможности для выявления биомаркеров этого состояния.

Цель исследования – проведение количественного анализа протеомного профиля сыворотки крови в первом триместре беременности у пациенток с преэклампсией и гипертензивными нарушениями с целью идентификации потенциальных биомаркеров.

Материалы и методы. Проведено одномоментное проспективное исследование пациенток с гипертензивными нарушениями при беременности: основная группа – ПЭ (n=50), группа сравнения – хроническая и гестационная артериальная гипертенция (ХАГ, ГАГ) (n=50) и контроль – физиологическая беременность (n=100). Для количественного протемного анализа 160 белков использовали систему ВЭЖХ ExionLC™ в сочетании с масс-спектрометром SCIEX QTRAP 6500+ в режиме MRM с отечественным набором пептидных стандартов, включая изотопно-меченные аналоги, для каждого белка. Протокол включал подготовку образцов, создание калибровочных стандартов и контролей качества, построение калибровочных кривых. Статистическая обработка данных осуществлялась методом VSN-нормирования с последующей спектральной кластеризацией методом мультимодального разрыва с формированием кластеров посредством гауссовой смешанной модели и определением оптимального количества кластеров исходя из максимизации значений статистики теста Хартигана.

Результаты и обсуждение. Использованный метод нормировки значительно уменьшил коэффициент вариации – с 44.9 (32.3; 137.6) для ненормализованных данных до 10.9 (8.8; 13.8) для нормированных данных – и увеличил число соединений, для которых CV<30% до 105. Количественный анализ 132 белков сыворотки крови соответствовал рекомендациями CPTAC и ICH M10, а концентрации 106 белков были выше LLOQ более чем в половине образцов. Для данных белков установлены референсные значения при физиологической беременности. Диапазон концентраций составил 4,7 порядка величины. Наибольший коэффициент вариации зарегистрирован у Cystatin-C (461%), наименьший – у Attractin (17%). Выявлено два кластера пациенток с преэклампсией: первый преимущественно включал случаи ранней преэклампсии, второй - поздние формы (88%). Выявлен 21 белок с достоверными различиями ($p<0.05$) между кластерами, вовлеченных в 13 молекулярных путей. Для 15 белков, характеризующих молекулярные подтипы ПЭ, и 22 клинических параметров матери и ребёнка были обнаружены статистически значимые корреляции ($p<0.05$).

Заключение. Разработанный подход позволяет выявлять патологические изменения в протеомном составе сыворотки крови уже в первом триместре беременности. Полученные данные свидетельствуют о гетерогенности преэклампсии и могут быть использованы для разработки методов прогнозирования этого осложнения.

Финансирование: исследование выполнено при финансовой поддержке Российской Федерации в лице Российского научного фонда – грант № 24-14-00140

МАГНИТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ PLLA СКЭФФОЛДЫ ДЛЯ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ

MAGNETORESPONSIVE PLLA SCAFFOLDS FOR REGENERATIVE MEDICINE

Сухинина Е.В.[1,2], Ведяшкина М.Ю.[1], Фетисова А.А.[2], Мухортова Ю.Р.[2], Сурменев Р.А.[2], Першина А.Г.[1,2]
E-mail: suhininaev@mail.ru

[1]*Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия*
[2]*Томский политехнический университет, г. Томск, Россия*

Введение. Тканевая инженерия предлагает перспективные подходы для регенерации поврежденных тканей, где ключевую роль играют биосовместимые скэффолды и стволовые клетки. В данном исследовании была изучена адгезия и жизнеспособность мезенхимальных стволовых клеток (МСК) на магниточувствительных скэффолдах из полилактида (PLLA), модифицированных наночастицами магнетита. Ранее показанная нами в эксперименте способность магниточувствительных скэффолдов влиять на экспрессионный профиль клеток при стимуляции переменным магнитным полем может стать основой для разработки новых стратегий регенеративной медицины, направленных на восстановление поврежденных тканей.

Цель исследования – изучить адгезию и жизнеспособность МСК человека на магниточувствительных PLLA скэффолдах.

Материалы и методы. В работе использовали PLLA скэффолды, полученные методом электроспиннинга с добавлением 20% магнетита Fe_3O_4 и без добавления. МСК человека выделяли из липоаспирата и использовали на ранних пассажах для исследования адгезии и жизнеспособности. Для оценки риска цитотоксического действия экстрактов скэффолда, МСК культивировали с питательной средой, в которой скэффолды вымачивались в течение 72 ч. Для оценки прямого контактного воздействия МСК рассаживали непосредственно на скэффолды. Адгезию МСК на скэффолдах анализировали на первый день при помощи анализа Alamar Blue, а также флуоресцентного окрашивания живых клеток Calcein-AM и мертвых клеток йодидом пропидия. Жизнеспособность клеток оценивали на 4 и 7 день. Для изучения морфологии клеток на волокнах скэффолда на 1 и 7 дни клетки фиксировали 4% параформальдегидом, окрашивали нити актина при помощи Phalloidin-Atto-565, ядра окрашивали DAPI и анализировали на конфокальном микроскопе.

Результаты и обсуждение. Скэффолды не оказывали цитотоксического действия на МСК. Было показано, что клетки адгезируют на скэффолды и соотношение жизнеспособных клеток на скэффолдах относительно данного показателя на культуральном пластике сохранялось в течение всего эксперимента (на 1, 4 и 7 дни). Окраска живых клеток при помощи флуоресцентных красителей показала, что клетки распределяются по поверхности скэффолда равномерно, повторяя неровности структуры скэффолда, оплетая волокна или располагаясь между ними. Исследование зафиксированных и окрашенных Phalloidin-Atto-565 клеток на конфокальном микроскопе показало, что клетки не проникают вглубь скэффолдов, предпочитая располагаться на поверхности или в приповерхностном слое.

Заключение. Исследование подтвердило биосовместимость магниточувствительных PLLA-скэффолдов: МСК демонстрировали стабильную адгезию и жизнеспособность в течение 7 дней. Полученные данные важны для разработки тканеинженерных конструкций, способных стимулировать регенерацию. Дальнейшие исследования могут быть направлены на разработку режимов стимуляции скэффолдов переменным магнитным полем для управления дифференцировкой клеток с целью улучшения регенерации тканей.

ОТ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ К ПАЦИЕНТАМ: АНАЛИЗ ПРОТЕОМНОГО ЛАНДШАФТА ЭКЗОСОМ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

FROM CELL LINES TO PATIENTS: DISSECTING THE PROTEOMIC LANDSCAPE OF EXOSOMES IN BREAST CANCER

Шефер А.А.[1], Яньшоле Л.В.[1], Проскура К.В.[2], Чернышова А.Л.[1], Тамкович С.Н.[1]
E-mail: s.tamkovich@g.nsu.ru

[1]Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск, Россия
[2] Новосибирский областной клинический онкологический диспансер, г. Новосибирск, Россия

Введение. Рак молочной железы (РМЖ) является наиболее распространенным онкологическим заболеванием среди женщин. Известно, что экзосомы – это наноразмерные внеклеточные везикулы, секретируемые различными типами клеток, в том числе и раковыми. Экзосомы принимают непосредственное участие в регулировании физиологических и патологических процессов в организме посредством горизонтального переноса функциональных молекул (белков, микроРНК и т.д.) от родительских клеток к клеткам-реципиентам.

Цель исследования – оценка диагностического потенциала экзосом крови и вклада эндотелиоцитов (HUVEC) в протеом экзосом крови.

Материалы и методы. Экзосомы выделяли методом ультрафильтрации и ультрацентрифугирования с последующим масс-спектрометрическим и биоинформационным анализом полученных данных. Экзосомальная природа везикул подтверждена с помощью трансмиссионной электронной микроскопии и проточной цитометрии.

Результаты и обсуждение. Обнаружено, что белки экзосом, секретируемые клетками MCF-7 и BT-474, образуют два кластера, один из которых усиливает злокачественный потенциал раковых клеток, а другой совпадает с кластером экзосомальных белков, продуцируемых HUVEC. Несмотря на отличие в составе белков экзосом, секретируемых клетками линий MCF-7 и BT-474, эти белки участвуют в сходных биохимических процессах. Сравнительный анализ показал, что в составе экзосом крови первичных больных РМЖ обнаружено больше опухоле-ассоциированных белков, чем в составе экзосом кондиционной среды клеток, имитирующих соответствующий подтип РМЖ (89% и 81% для люминального А РМЖ и клеток MCF-7 и 86% и 80% для трижды-положительного РМЖ и клеток BT-474, соответственно).

Заключение. Опухоле-ассоциированные белки более эффективно выявляются в составе экзосом крови онкологических больных, при этом вкладом экзосом эндотелиоцитов в общий пул экзосом крови можно пренебречь.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда N25-15-20023.

АССОЦИАЦИЯ МЕЖДУ ТИПОМ ТЕЧЕНИЯ ШИЗОФРЕНИИ И ПОЛИМОРФНЫМИ ВАРИАНТАМИ ГЕНА TCF4

ASSOCIATION BETWEEN THE TYPE OF SCHIZOPHRENIA COURSE AND POLYMORPHIC VARIANTS OF THE *TCF4* GENE

Тигунцев В.В., Бойко А.С., Михалицкая Е.В.
E-mail: cristall2009@live.ru

НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, г. Томск, Россия

Введение. В современной психиатрии тип течения шизофрении имеет прогностическую ценность. Эпизодический тип течения с наличием ремиссий, когда симптомы болезни сглаживаются или уходят полностью, а у пациента появляется критика к собственному состоянию, считается более благоприятным в сравнении с непрерывным типом течения. Ген *TCF4* расположен в регионе 18q21 и кодирует транскрипционный фактор 4 – белок, который распознает сайт связывания Ephrussi-box («E-box») ('CANNTG'). Этот ген широко экспрессируется в организме и может играть важную роль в развитии нервной системы и эмбриогенезе. Полиморфный вариант *TCF4* rs2958182, как было показано на выборках в европейской и китайской популяциях, входит в локус предрасположенности к шизофрении.

Цель исследования – провести ассоциативный анализ между типом течения шизофрении и полиморфными вариантами гена *TCF4*.

Материалы и методы. Обследованы 373 больных шизофренией (193 мужчины и 180 женщин) славянской национальности, проходившие стационарное лечение в отделении эндогенных расстройств клиники НИИ психического здоровья Томского НИМЦ г. Томска. Тяжесть психического состояния верифицировали по шкале оценки позитивных и негативных синдромов (PANSS) в адаптированной русской версии (SCI-PANSS). Для исследования были выбраны 3 полиморфных варианта в гене *TCF4*: rs2958182, rs8766, rs9636107. Генотипирование проводили методом ПЦР в реальном времени с использованием наборов SNP Genotyping Assay (ThermoFisher Scientific, США) на приборе StepOnePlus (Applied Biosystems, США). Статистический анализ выполнен с использованием программного обеспечения Statistica for Windows V.12.0 (StatSoft, Россия). При сравнении качественных данных использовался $\chi 2$-критерий Пирсона с поправкой Йетса. Пороговый уровень статистической значимости $p = 0.05$.

Результаты и обсуждение. Обнаружены значимые различия (χ^2=7,13; p=0,008) в частотах аллелей полиморфного варианта *TCF4* rs8766. Аллель T (OR = 1,59; 95 % CI 1,14–2,22) статистически значимо чаще встречался в подгруппе с эпизодическим типом течения. В то же время аллель C преобладал в подгруппе с непрерывным типом течения (OR = 0,63; 95 % CI 0,45–0,88). Так как ген *TCF4* принимает участие в эмбриогенезе и развитии нервной трубки, вышеприведённые данные говорят в пользу гипотезы о том, что шизофрения является следствием нарушенного онтогенеза центральной нервной системы. Ранее эта гипотеза подтверждалась анализом преморбидных анамнестических данных пациентов с шизофренией – у них отмечались повышенная частота акушерских осложнений и сниженные психические функции.

Заключение. В результате проведенного исследования впервые были обнаружены ассоциации полиморфного варианта *TCF4* rs8766 с типом течения шизофрении. Полученные данные подтверждают роль генетической компоненты в формировании клинической гетерогенности шизофрении у пациентов Сибирского региона и открывают перспективы для дальнейшего поиска генетических маркеров с целью предотвращения неблагоприятного исхода заболевания.

Исследование поддержано междисциплинарным проектом Томского НИМЦ «Роль транскрипционного фактора TCF4 в патогенезе шизофрении и синдрома Питта–Хопкинса».

ВЗАИМОСВЯЗЬ ДНРНК – PART1 И МИКРОРНК ПРИ РАКЕ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

INTERRELATIONSHIP BETWEEN DNA – PART1 AND MICRORNA IN PROSTATE CANCER

Тимофеева С.В., Филиппова С.Ю., Мезенцев С.С., Новикова И.А., Кит О.И.
E-mail: timofeeva.sophia@gmail.com

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия

Введение. Рак предстательной железы является одной из наиболее распространенных форм рака среди мужчин, и его патогенез связан с комплексным взаимодействием генетических и эпигенетических факторов. В последние годы внимание исследователей привлекли длинные некодирующие РНК (днРНК) [1], которые играют важную роль в регуляции экспрессии генов. Одной из таких молекул является днРНК–PART1, которая, согласно предварительным данным, может влиять на регуляцию микроРНК.

Целью нашего исследования был биоинформатический поиск взаимодействия днРНК–PART1 и микроРНК при раке предстательной железы.

Материалы и методы. Для анализа использовали данные из открытых баз данных The Cancer Genome Atlas (TCGA) и Gene Expression Omnibus (GEO). Комплексный поиск взаимодействия днРНК–PART1 и микроРНК при раке предстательной железы был проведен с помощью алгоритма LncRRIsearch. LncRRIsearch включает в себя множество анализов локальных взаимодействий оснований, предсказанных Riblast для каждой днРНК. Основным критериями, используемым для определения наиболее вероятных взаимодействий между мРНК и днРНК, является минимальная свободная энергия (KCAL/MOL). Далее проанализировали взаимодействия днРНК с транскриптом PART1 (ENSG00000152931), используя базу данных LNCRNASNP2-HUMAN, и определили связанные с ними микроРНК при RPM>=1 (т.е. микроРНК с высокой экспрессий).

Результаты. Для транскрипта PART1 (ENSG00000152931) идентифицировали две днРНК, которые продемонстрировали наибольшую вероятность взаимодействия: RPGR (ENSG00000156313), SNX8 (ENSG00000106266) и MLYCD (ENSG00000103150). Далее провели поиск микроРНК с высокой экспрессией в регионах выше упомянутых днРНК и установили, что при условии RPM>=1, RPGR связан с 51 микроРНК, SNX8 – с 42 микроРНК, MLYCD – с 73 микроРНК, и в то же время PART1 взаимодействует с 124 микроРНК.

Заключение. Получены данные для функциональных карт, которые могут быть полезны для поиска биомаркеров для ранней диагностики рака предстательной железы.

Ключевые слова. Рак предстательной железы, длинные некодирующие РНК, микроРНК, днРНК– PART1.

1. Timofeeva, S. V. Polymorphism rs2383207 of CDKN2B-AS and Susceptibility to Atherosclerosis: A Mini Review / S. V. Timofeeva, T. A. Sherchkova, T. P. Shkurat // Non-Coding RNA. – 2022. – Vol. 8, No. 6. – DOI 10.3390/ncrna8060078. – EDN XHCKSZ.

ГЕНЫ ГЛУТАМАТЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В КЛИНИЧЕСКОМ ПОЛИМОРФИЗМЕ ШИЗОФРЕНИИ

GENES OF THE GLUTAMATERGIC SYSTEM IN CLINICAL POLYMORPHISM OF SCHIZOPHRENIA

Федоренко О.Ю.[1], Полтавская Е.Г.[1], Корнетова Е.Г.[1]
Email: f_o_y@mail.ru

[1]*НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, г. Томск, Россия*

Введение. Шизофрения – тяжелое, клинически гетерогенное психическое расстройство, характеризующееся позитивными, негативными и когнитивными нарушениями. Дофаминергическая и глутаматергическая системы играют важную роль в патофизиологии шизофрении. Дофаминовая гипотеза является самой долговременной и основана на купировании позитивной симптоматики (бред, галлюцинации, дизорганизация мышления) антипсихотическими препаратами, блокирующими D2 дофаминовые рецепторы, но она не объясняет развитие негативной симптоматики (апатия, абулия) и когнитивных нарушений. Нарушения глутаматергической нейротрансмиссии тесно связаны с когнитивным дефицитом, антипсихотическим ответом и клиническим исходом при шизофрении.

Цель исследования – изучить роль полиморфизма генов глутаматергической системы в клинической гетерогенности шизофрении (возраст начала заболевания (ранний, взрослый), ведущая симптоматика (позитивная или негативная), тип течения (эпизодический или непрерывный)).

Материалы и методы. Обследовано 944 больных шизофренией (возраст 18-60 лет) русской национальности Сибирского региона. Оценка клинической симптоматики проводилась по шкалам PANSS, CGI. Генотипирование 50 полиморфных вариантов генов глутаматергической системы (*GRIN2A, GRIN2B, GRIK4, GRM3, GRM7, GRM8, SLC1A2, SLC17A7*) выполнено с помощью The MassARRAY® Analyzer 4 by Agena Bioscience™, набором SEQUENOM Consumables iPLEX Gold 384. Статистическая обработка результатов проведена с помощью программы SPSS, версия 20.0 и в программе R 4.0.4 с использованием базовых функций и пакета «haplo.stats».

Результаты и обсуждение. Выявлена ассоциация *GRIN2A* rs7206256*A, rs11644461*GG/G и *GRIN2B* rs7313149*A с ранним возрастом начала шизофрении. Аллель *SLC17A7* rs62126236*T обладает относительным протективным действием против развития ведущей негативной симптоматики при шизофрении. Аллель *GRIN2A* rs8057394*G является относительным фактором риска развития непрерывного типа шизофрении. Аллели *GRIN2A* rs11644461*T и *GRIN2B* rs7313149*T обладают протективным действием против развития непрерывного типа шизофрении. Зарегистрирован способ прогнозирования непрерывного течения шизофрении на основе определения фенотипических, клинических и генетических данных глутаматергической системы, позволяющий повысить объективность и точность прогнозирования непрерывного течения шизофрении на этапе поступления пациентов, в начале заболевания.

Заключение. Показано участие генов глутаматергической системы в формировании клинических фенотипов шизофрении, связанных с неблагоприятным прогнозом заболевания.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ 21-15-00212.

АМИНОКИСЛОТНЫЙ ДИСБАЛАНС У БЕРЕМЕННЫХ С ГЕСТАЦИОННЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ: РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ТОМСКОЙ И МОСКОВСКОЙ ПОПУЛЯЦИЙ

AMINO ACID IMBALANCE IN PREGNANT WOMEN WITH GESTATIONAL DIABETES MELLITUS: RESULTS OF A STUDY OF THE TOMSK AND MOSCOW POPULATIONS

Франкевич В.Е.[1,2], Чаговец В.В.[1], Токарева А.О.[1], Юрьев С.Ю.[2], Франкевич Н.А.[1]
E-mail; vfrankevich@gmail.com

[1]ФГБУ «НМИЦ АГП им.В.И.Кулакова» Минздрава РФ, г. Москва, Россия
[2]Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

Введение. Гестационный сахарный диабет (ГСД) является частым осложнением беременности, ассоциированным с метаболическими нарушениями, которые могут влиять на развитие плода. Изучение аминокислотного профиля у женщин с ГСД позволяет выявить потенциальные биомаркеры осложнений, включая диабетическую фетопатию (ДФ). В данной работе был проведен анализ аминокислотного спектра у беременных Томского и Московского регионов, что послужило основой для разработки персонализированных подходов ведения беременности.

Цель исследования – оценить аминокислотный профиль в пуповинной плазме, амниотической жидкости и сыворотке крови у беременных с ГСД в Томском и Московском регионе и выявить его фенотипические особенности.

Материалы и методы. Проведен количественный масс-спектрометрический анализ аминокислот в трех биологических жидкостях. Дополнительно учтены терапия (диетотерапия/инсулин) и антропометрические параметры..

Результаты и обсуждение. В настоящем исследовании проведен комплексный анализ аминокислотного профиля в биологических жидкостях (пуповинной плазме, амниотической жидкости и сыворотке крови) у беременных женщин Томского и Московского региона с ГСД. Использование масс-спектрометрического метода позволило выявить значимые отличия концентраций ключевых аминокислот: значительное повышение уровней изолейцина ($p=0,0049$) и метионина ($p=0,0236$) в пуповинной плазме, увеличение содержания валина ($p=0,0438$) и лейцина ($p=0,005$) в амниотической жидкости, а также снижение концентраций триптофана ($p=0,0052$) и гистидина ($p=0,044$) в сыворотке крови у пациенток с ГСД. Особенно выраженные изменения наблюдались в группе с диабетической фетопатией, где отмечалось снижение уровня аргинина ($p=0,033$), что может свидетельствовать о нарушении метаболизма оксида азота. Полученные данные демонстрируют существенные нарушения аминокислотного обмена при ГСД, особенно затрагивающие метаболизм разветвленных и ароматических аминокислот, и могут служить основой для разработки новых диагностических маркеров. Показаны отличия аминокислотного профиля беременных Томского и Московского регионов, что можно связать как с региональными пищевыми привычками (более высокий уровень разветвленных аминокислот у Томской когорты) так и с этническими и экологическими факторами (изменение уровня таурина и глутамина).

Заключение. Полученные данные позволили выявить региональные особенности метаболизма при ГСД и усовершенствовать тактику ведения пациенток с ГСД на основании персонифицированного подхода

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-64-00006, https://rscf.ru/project/24-64-00006/

ГЕРОНТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ УРОВНЯ ПОВРЕЖДЕНИЯ ДНК ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

THE GERONTOLOGICAL FEATURES OF THE DNA DAMAGE LEVEL IN ALZHEIMER'S DISEASE MODEL

Хуссейн З.Б.А.[1], Антосюк О.Н.[1], Костенко В.В.[2]
E-mail: antosuk-olga@mail.ru

[1]Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург, Россия
[2]Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия

Введение. Нейро-дегенеративные заболевания, в частности болезнь Альцгеймера (БА) являются актуальной проблемой в современном мире, так как не имеют разработанных методов лечения. В связи с чем ведется активный поиск потенциальных геро- и нейропротекторов, как среди природного сырья, так и за счет синтеза новейших синтетических вариантов лекарственных препаратов. Возрастные изменения генетического материала, такие как накопление мутаций, снижение активности и эффективности репарационных систем, избыточность повреждения ДНК может приводить к ускорению течения и реализации заболевания БА.

Цель исследования – охарактеризовать возрастные изменения уровня поврежденности ДНК в головном мозге у трансгенных особей *Drosophila melanogaster* с экспрессией гена *APP* человека.

Материалы и методы. В работе использовали трансгенных гибридных мух F_1, полученных путем скрещивания самок daughterless-Gal4 (da-Gal4) и самцов UAS-APP695-N-myc. Повреждение ДНК оценивали методом ДНК-комет у мух разного возраста: 1 день, 3 дня, 7, 14, 21 и 28 дней. Биологический материал гомогенизировали, затем производили лизис и электрофорез, а после окрашивания бромистым этидием, микроскопировали и рассчитывали индекс повреждения ДНК на основании выявленных типов ДНК-комет (ранги от 0 до 4 по степени повреждения ДНК).

Результаты и обсуждение. Установлено, что для особей разного возраста характерно вариативность по уровню повреждения ДНК. Увеличение пула поврежденной ДНК в мозге у более возрастных групп, согласно полученным данным, может способствовать ускорению патологических процессов, наблюдаемых при болезни Альцгеймера.

Заключение. Выявили геронтологические особенности в степени поврежденности ДНК в головном мозге у особей *Drosophila melanogaster* с экспрессией гена *APP* человека.

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ КОПИЙНОСТИ ГЕНОВ WNT-СИГНАЛЬНОГО ПУТИ ПРИ РАКЕ ГОРТАНИ

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF WNT-SIGNALING PATHWAY GENE COPY NUMBER IN LARYNGEAL CANCER

Цыденова И.А.[1,2,3], Кравцова Е.А.[1,2], Долгашева Д.С.[1,2], Цыганов М.М.[1,3], Гаптулбарова К.А.[1,2], Ибрагимова М.К.[1,2,3], Литвяков Н.В.[1,3]
E-mail: tsydenova422@gmail.com

[1]НИИ онкологии Томского НИМЦ, г. Томск, Россия
[2]Томский государственный университет, г. Томск, Россия
[3]Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

Введение. Рак головы и шеи является седьмым по распространенности типом рака в мире и включает в себя разнообразную группу опухолей, поражающих верхний дыхательный и пищеварительный тракт. Наиболее распространенным новообразованием в этой группе является рак гортани.

Цель исследования – оценка CNA генов WNT-сигнального пути при раке гортани и анализ связи CNA этих генов с метастазированием.

Материалы и методы. В исследование включен 41 пациент с плоскоклеточным раком гортани (T1-4N0-2M0), которые проходили лечение в НИИ онкологии Томского НИМЦ. Возраст пациентов варьировал от 46 до 86 (средний возраст 62 года). Все процедуры проводились в соответствии с Хельсинкской декларацией (1964 г., с изменениями 1975 и 1983 гг.). ДНК выделяли из свежих образцов опухолевых тканей после НХТ с помощью набора QIAamp DNA mini. Для изучения CNAs опухоли рака гортани проводили микрочиповой анализ с использованием высокоплотной микрочиповой платформы Affymetrix (США) CytoScanTM HD Array. Процедуры пробоподготовки, гибридизации и сканирования проводили в соответствии с протоколом производителя с использованием системы Affymetrix GeneChip® Scanner 3000 7G (Affymetrix, США). Используя базу данных KEGG GSEA и reactome, было отобрано 302 гена WNT-сигнального пути человека.

Результаты и обсуждение. Всего в хромосомных регионах с наибольшей разницей в частотах делеций и амплификации было локализовано 30 сигнальных генов WNT: *GNG5, WLS, GSK3B, RUVBL1, RYK, LRP6, GNB3, WNT5B, PRICKLE, WNT10B, WIF1, LGR5, PSMD9, PSMB3, FZD2, GNGT2, PSMC5, SMURF2, AXIN2, PRKCA, RSPO1, WNT4, PSMD6, WNT5A, RHOA, CTNNB1, GNGT1, CLTA, TNRC6A, TCF4*. Различия между группами статистически значимы по двустороннему критерию Фишера с высоким уровнем доверительной вероятности (p=0,000003) и по лог-ранговому тесту (p=0,00004) при оценке безметастатической выживаемости по методу Каплана–Майера. С помощью литературных данных эти гены были разделены на группы согласно функциям, которые они выполняют в WNT-сигнальном пути. Найденные гены могут использоваться в качестве прогностического фактора.

Заключение. Результаты исследования подтверждают рабочую гипотезу о том, что CNAs сигнальных генов WNT вовлечены в метастатический процесс. Также было идентифицировано 30 генов WNT-сигнального пути и обнаружено, что аберрации числа копий этих генов ассоциированы с метастазированием.

АНАЛИЗ МЕТАБОЛОМА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПАТОЛОГИЙ, СВЯЗАННЫХ С ГЕНЕТИЧЕСКИМИ МУТАЦИЯМИ И НАРУШЕНИЯМИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ БЕЛКОВ

METABOLOME ANALYSIS TO DETECT PATHOLOGIES ASSOCIATED WITH GENETIC MUTATIONS AND PROTEIN DYSFUNCTION

Чаговец В.В.[1], Новоселова А.В., Франкевич В.Е.[1,2]
E-mail: vfrankevich@gmail.com

[1]ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава РФ, г. Москва, Россия
[2]Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

Введение. Анализ мутаций генов, основываясь на концентрациях метаболитов, представляет собой перспективное направление в молекулярной биологии и генетике. Изменения уровней метаболитов могут служить индикаторами изменений в генах и связанных с ними белков, отвечающих за метаболические пути. Такие изменения могут влиять на активность ферментов, что приводит к нарушениям в метаболизме и, как следствие, к различным патологиям.

Органические кислоты участвуют во множестве метаболических путей, ответственных за функционирование как отдельных клеток, так и организма в целом. Информация об особенностях профиля органических может способствовать улучшению диагностики и понимания механизмов развития патологий.

Цель исследования – разработать метод анализа органических кислот в биологических образцах и оценить возможность диагностики различных акушерских, гинекологических и неонатальных патологий, исходя из особенностей профиля органических кислот.

Материалы и методы. Разработаны методы масс-спектрометрического анализа органических кислот с помощью масс-спектрометрии. Проведен анализ образцов мочи и крови пациентов с задержкой развития плода, а также тканей пациентов с раком молочной железы.

Результаты и обсуждение. По результатам анализа тканей молочной железы с помощью десорбционной электрораспылительной масс-спектрометрии (DESI-MS) выявлено значимое отличие отношения уровня 2-гидроксиглутаровой кислоты к альфа-кетоглутаровой в нормальной ткани по сравнению с раковой. Это может свидетельствовать в пользу мутации в генах IDH1 и IDH2.

При анализе профиля органических кислот в плазме крови с помощью масс-спектрометрии с жидкостной хроматографией обнаружены значимые отличия лимонной и гомогентизиновой кислот, в также суберилглицина. На основании найденных отличий разработана модель для прогнозирования развития задержки роста плода.

Созданный метод анализа 37 органических кислот может быть использован для диагностики некоторых врожденных нарушений.

Заключение. Интеграция данных о мутациях генов и метаболитах открывает новые возможности для разработки методов, направленных на персонифицированный подход в диагностике и терапии заболеваний.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-64-00006, https://rscf.ru/project/24-64-00006/

РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЕ СИСТЕМ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ВЕЩЕСТВ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА

DEVELOPMENT AND STUDY OF LOW MOLECULAR WEIGHT COMPOUNDS TARGETED DELIVERY SYSTEMS BASED ON CHITOSAN

Черникова Э.Е., Курзина И.А.
E-mail: abby.wade@mail.ru

НИ Томский государственный университет, г. Томск, Россия

Введение. Ограничения традиционной системной доставки лекарств, такие как низкая биодоступность, нецелевое распределение лекарственного препарата и побочные эффекты, стимулируют разработку систем адресной доставки. Этот подход, являясь приоритетным в современной фармацевтике, нацелен на прямое воздействие на очаг заболевания, усиливая терапевтический эффект и минимизируя токсичность препарата. Хитозан, благодаря своей биосовместимости, биоразлагаемости, нетоксичности и способности к формированию нано- и микрочастиц, представляется перспективным материалом для дизайна и получения систем адресной доставки как низкомолекулярных, так и белковых молекул.

Цель исследования – получение наночастиц на основе хитозана методом ионотропного гелеобразования с хемосорбированным и инкапсулированным флуоресцеином, изучение физико-химические свойства частиц.

Материалы и методы. В ходе синтеза были использованы: хитозан низкомолекулярный, натрия гидрофосфат двенадцативодный, флуоресцеин, натрия гидроксид, глутаровый альдегид, дистиллированная вода.

Системы адресной доставки флуоресцеина получали методом ионотропного гелеобразования. Так, раствор $Na_2HPO_4*12H_2O$ вводили по каплям в слабокислый раствор хитозана при постоянном перемешивании. Далее раствором NaOH доводили pH до 10. Для образования наночастиц хитозана вносили 2 мл глутарового альдегида и перемешивали 1 час для проведения альдольной конденсации. Коллоидный раствор многократно промывали водой и фильтровали. Инкапсуляция осуществлялась внесением 15 мл раствора флуоресцеина в раствор хитозана, хемосорбция – вымачиванием готовых частиц в 15 мл раствора флуоресцеина в течение суток.

Результаты и обсуждение. Были получены ИК-спектры частиц на основе хитозана, характеризующиеся полосами, соответствующими иминовой (N=C, 1655 $см^{-1}$) и этиленовой (C=C, 1562 $см^{-1}$) связям. Отсутствие полосы в районе 1720 $см^{-1}$, характерной для свободной альдегидной группы, указывает на завершенность альдольной конденсации.

Средний размер частиц хитозана, а также систем с инкапсулированным и хемосорбированным флуоресцеином составил 147±1,5, 126±1,1 и 113±0,7 нм соответственно.

Заключение. В данном исследовании были получены наночастицы на основе хитозана с инкапсулированным и хемосорбированным флуоресцеином. На основании ИК-спектров можно говорить о полноте альдольной конденсации. Включение флуоресцеина способствует снижению среднего размера частиц, что указывает на перспективность использования данных материалов для доставки белков/лекарств с взрывным характером высвобождения.

Работа выполнена при поддержке Государственного задания (проект FSWM-2025-0013)

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ИЗ КАЛЕНДУЛЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ НА РАЗВИТИЕ РАКА ЛЕГКОГО-67 У МЫШЕЙ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЦИТОСТАТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

EFFECT OF A EXTRACT FROM THE *CALENDULA OFFICINALIS* L. ON THE DEVELOPMENT OF LUNG CANCER–67 IN MICE AND THE EFFICACY OF CYTOSTATIC THERAPY

Chernyaev I.S[1,2], An L.A.[2], Kiseleva E.A.[2]
E-mail: ilarabocij0@gmail.com

[1]*Tomsk State University, Tomsk, Russia*
[2]*Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine TNRMC, Tomsk, Russia*

Abstract. Currently, there is a growing interest in preparations made from various parts of plants, due to their great availability and a wide range of pharmacological action. Also their low toxicity allows to use them for a long time for prevention and treatment of many diseases with minimal risk of side effects. One of the plants for the creation of such preparations can be *Calendula officinalis* L. This plant is widely known both in folk and official medicine due to a large number of therapeutic points of application. The most interesting for the study are calendula flowers containing carotenoids, which, according to some data, increase the cytostatic activity of NK cells, slow down the growth of some tumors.

The aim of this study is to investigate the effect of an extract from the above-ground parts of *Calendula officinalis* L., on the development of Lung Cancer – 67 transplanted in mice and on the efficacy of cytostatic therapy.

Materials and methods. The experiment was performed for 21 days, on 61 female mice of the C57Bl/6 line weighing 20–21 g. Lung Cancer – 67 (LC–67) transplantation was performed by injecting a suspension of tumor cells (4–5 x 10^6 tumor cells in 0.1 mL of 0.9% NaCl solution) into the left hind leg muscle of the recipient animal. The following values were used to determine the efficacy of the extract under the conditions of this model: tumor growth inhibition (TGI), metastasis frequency (MF) and metastasis inhibition index (MII). Statistical processing of the results was performed by calculating the mean (X) and standard error (m) using the nonparametric Wilcoxon–Mann–Whitney (U) criterion. Fisher's angular transformation test was used to identify the reliability of differences in qualitative indicators. Differences were considered reliable at $P<0.05$.

Results and discussion. The isolated use of calendula extract in doses of 1 mL/kg and 5 mL/kg revealed inhibitory effect on dissemination process: the number of metastases decreased by 3.7 and 4.4 times, and their area – by 7.9 and 2.6 times relative to these data in control mice, MII was 78% and 83%, respectively. During the experiments it was found that the use of cyclophosphamide(it was administered once, on the 10th day, at a dose of 125 mg/kg) had a significant inhibitory effect on LC-67 development (TGI=42%, MII=83%). Upon the addition of calendula extract at a dose of 1 mL/kg to the chemotherapy regimen of LC-67, there was a tendency to decrease all tumor development indices in animals; when adding calendula extract at a dose of 5 mL/kg, the weight of primary tumor in mice was significantly less than that in mice receiving only cytostatic, TGI was 54% vs. 42%. Besides, in animals of this combined group the MF decreased significantly from 70% to 30%, as well as the mass of lungs with metastases decreased, the MII was the highest and amounted to 98%; the decrease in the number and area of metastases (by 3.0 and 3.3 times) relative to these indicators in animals receiving only cytostatics had the character of a trend.

Conclusion. Thus, mice with LC-67 showed a decrease in the number and area of lung metastases under the influence of liquid extract of the above-ground part of *Calendula officinalis* L. administered in doses of 1 mL/kg and 5 mL/kg. When used in the chemotherapy regimen for the extract of *Calendula officinalis* L. at a dose of 5 mL/kg, an increase in the antitumor and antimetastatic effects of cyclophosphamide was observed, as judged by all indicators of LC-67 development.

ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ ЧАСТОТЫ CNA ГЕНОВ ЭКСЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ В ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ASSESSMENT OF CHANGES IN THE CNA FREQUENCY OF EXCISION REPAIR GENES IN BREAST TUMORS

Шагабудинова А.К.[1,2], Ибрагимова М.К. [1,2], Кравцова Е.А.[1], Цыганов М.М.[1], Литвяков Н.В.[1,2]
E-mail: arisha.shagabudinova@mail.ru

[1] НИИ онкологии Томского НИМЦ, г. Томск, Россия
[2]Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия

Введение. В настоящее время одними из наиболее эффективных и активно применяемых цитостатических средств для лечения рака молочной железы (РМЖ) в неоадъювантном режиме (неоадъювантная химиотерапия, НХТ), являются антрациклин-содержащие и таксан-содержащие препараты. Механизм их действия основан на индукции повреждений ДНК. Активность генов эксцизионной репарации может нейтрализовать этот эффект, способствуя выживанию опухолевых клеток и развитию резистентности к химиотерапии. В связи с этим, особую актуальность приобретает исследование изменений в генах эксцизионной репарации (ГЭР), включая аберрации числа копий ДНК (CNA), для возможности формирования панели прогностических маркеров эффективности НХТ.

Цель исследования – оценка изменений частоты CNA генов системы эксцизионной репарации (ГЭР) в опухоли молочной железы в процессе лечения при применении стандартных схем неоадъювантной химиотерапии

Материалы и методы. В исследование включены 63 больных с морфологически верифицированным диагнозом РМЖ $T_{1\text{-}4}N_{0\text{-}3}M_0$ (IIA–IIIB стадии) люминального B HER2-негативного подтипа, в возрасте 24-68 лет (средний возраст 47,1±0,3 лет (Mean±SE)). В качестве исследуемого материала были использованы биопсийные опухолевые образцы и операционный материал после НХТ. ДНК из опухолевой ткани выделяли из 63 парных образцов опухоли до лечения и после НХТ при помощи набора QIAamp DNA mini Kit (Qiagen, Germany # 51304) в соответствии с инструкцией производителя. Для анализа аберраций числа копий (CNA) проводили микроматричный анализ на ДНК-чипах высокой плотности CytoScanTM HD Array (Affymetrix (USA)). Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ «Statistica 8.0».

Результаты. В результате оценки изменения CNA (copy number aberration – аберрации числа копий ДНК) регионов локализации ГЭР в опухоли молочной железы было проведено описание CNA-ландшафта опухоли в зависимости от применения различных стандартных схем НХТ. Все пациенты были разделены на 2 группы. 1 группу составили пациенты, получившие в режиме НХТ антрациклин-содержащие схемы (CAX (циклофосфан, доксорубицин, капецитабин), ACT (доксорубицин, циклофосфан, таксотер), FAC (фторурацил, доксорубицин, циклофосфамид)). 2 группу - пациенты, получившие в режиме НХТ таксан-содержащие схемы лечения (AT (доксорубицин, таксотер), таксотер в моно-режиме). В результате сравнения частот CNA регионов локализации ГЭР в опухоли до и после лечения для пациентов 1 группы обнаружено статистически значимое снижение частоты делеций в 17 локусах (4p16.3, 5q13.3, 8p12, 8p23.1, 10q24.1, 10q24.32, 10q25.3, 10q26.3, 11q22.3, 13q13.1, 13q33.1, 13q33.3, 13q34, 17q12, 17q21.31, 19p13.3, 22q11.23) ($p<0,05$), а также статистически значимое снижение частоты амплификаций в 1 локусе: 10p15.1 (расположен ген *FBH1*) с 29,55% до 9,09% ($p=0,028$). Сравнение изменений частот CNA регионов локализации ГЭР в процессе НХТ во 2 группе пациентов показало статистически значимое снижение частоты делеций в 5 локусах (6q16.2, 10q11.23, 13q33.3, 13q34, 14q11.2) ($p<0,05$), при этом, статистически значимого изменения частоты амплификаций обнаружено не было.

Заключение. Определены наибольшие частоты CNA регионов локализации генов системы эксцизионной репарации в опухоли до и после лечения, оценены изменения CNA регионов локализации ГЭР в опухоли молочной железы в зависимости от применения различных стандартных схем НХТ.

КЛИНИКО-МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ПОЛИСОМИИ 17 ХРОМОСОМЫ

CLINICAL AND MOLECULAR FEATURES OF BREAST CANCER WITH *POLYSOMY OF CHROMOSOME 17*

Шакирова О.Д.[1,2], Паталяк С.В.[1,2], Грищенко М.Ю.[2,3], Кайгородова Е.В.[1,2]
E-mail: oleksisha@yandex.ru; zlobinae@mail.ru

[1]Научно-исследовательский институт онкологии, ТНИМЦ РАН, г. Томск, Россия
[2]Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ), г. Томск, Россия
[3]ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер», г. Томск, Россия

Введение. Рак молочной железы (РМЖ) остается актуальной проблемой современной онкологии, так как продолжает быть одной из ведущих причин онкологической смертности среди женщин. Одним из ключевых прогностических и предиктивных маркеров является статус HER2 (рецептора 2-го типа эпидермального фактора роста), который определяет тактику лечения и прогноз заболевания. HER2-положительный подтип РМЖ, характеризующийся повышенной экспрессией рецептора HER2, что встречается в 15-20% всех случаев и связано с агрессивным течением заболевания. Золотым стандартом для определения HER2-статуса является иммуногистохимическое исследование (IHC), флуоресцентная in situ гибридизация (fluorescence in situ hybridization – FISH), которая позволяет оценить амплификацию гена ERBB2 (HER2/neu), расположенного на 17 хромосоме. Однако, интерпретация FISH-результатов может быть затруднена наличием полисомии 17 хромосомы (увеличение числа копий CEP17), встречающийся в 10–30% случаев РМЖ. Это может повлиять на результаты HER2-тестирования, в том числе приводя к избыточной презентации HER2 на мембране без амплификации гена ERBB2. В связи с этим, оценка полисомии хромосомы 17 важна для комплексной характеристики HER2-положительных опухолей. Многочисленные исследования демонстрируют, что анеуплоидия и полисомия отдельных хромосом, в частности увеличение сигнала CEP17, могут служить маркерами геномной нестабильности. Опухоли с выраженной геномной нестабильностью обладают агрессивным ростом, неблагоприятным прогнозом, а также могут быть нечувствительные к лекарственной терапии. Исходя из этого, целью нашего исследования послужило изучение клинических особенностей и молекулярных характеристик РМЖ в зависимости от количества сигнала CEP17 в ядрах опухолевых клеток.

Цель исследования – изучить клинико-молекулярные характеристики рака молочной железы в зависимости от степени выраженности полисомии 17 хромосомы (количества сигнала CEP17 в ядрах опухолевых клеток), включая анализ связи с возрастом, молекулярных типом опухоли, HER2-статусом, пролиферативной активностью и лимфогенным метастазированием.

Материалы и методы. В ретроспективное исследование были включены 78 пациенток с РМЖ, проходившие лечение в НИИ онкологии Томского НИМЦ. На биопсийном материале проводили иммуногистохимический (ИГХ) анализ презентации белка HER2 на мембране опухолевых клеток и FISH-исследование с помощью меченных различными флуоресцентными метками LSI-зонда к ERBB2, CEP-зонда хромосомы 17 (LSI ERBB2/CEP17, Kreatech, Leica Biosystems, Королевство Нидерландов) и ядерного красителя DAPI с

визуализацией на флуоресцентном микроскопе Carl Zeiss (Германия). Согласно рекомендациям ASCO-CAP (2023), HER2-позитивный статус устанавливали при соотношении сигналов HER2/CEP17 ≥ 2 или количестве копий гена HER2/neu > 6 на клетку. Полисомия 17 хромосомы определялась в случае регистрации числа копий центромер 17 хромосомы (CEP17) ≥3 на ядро. По результатам работы были сформированы три группы исследования в зависимости от количества сигналов центромер 17 хромосомы (CEP17): группа 1 (n=42) – без полисомии 17 хромосом, группа 2 (n=16) – с выраженной полисомией (CEP17≥3.5), группа 3 (n=20) – с полисомией (CEP17 ≥3 <3,5). Статистический анализ выполняли с использованием программ STATISTICA 10.0 и StatTech v.4.8.0, применяя критерий Колмогорова-Смирнова для оценки нормальности распределения, U-критерий Манна-Уитни и t-критерий Стьюдента для сравнения групп, критерий χ^2 Пирсона и точный критерий Фишера для анализа категориальных переменных, а также методы корреляционного (Спирмена) и ROC-анализа. Различия считали статистически значимыми при p <0,05.

Результаты и обсуждение. Мы исследовали, как полисомия 17 хромосомы и ее выраженность ассоциированы с молекулярными и клиническими особенностями рака молочной железы. Из 78 больных РМЖ, включенных в исследование, у 36 женщин была выявлена полисомия 17 хромосомы в опухолевых клетках (CEP17≥3 на ядро). При этом у 16 из 37 наблюдалась более выраженная полисомия с количеством сигнала CEP17 ≥ 4. Нами была обнаружена слабая прямая корреляционная связь между возрастом и средним сигналом CEP17 на ядро на уровне статистической тенденции (RCпирмена=0,20, p=0,074, N=78), причем данная зависимость была более яркой в группе с наличием выраженной полисомии (CEP17≥4). Средний возраст больных в группе с выраженной полисомией (n=16) составил 61,0 лет (53,98 – 68,02), а в группе без полисомии 17 хромосомы (n=42) 52,4 (48,65 – 56,16) (p=0,021, t–критерий Стьюдента). Это согласуется с гипотезой о накоплении хромосомных аномалий в процессе старения, что может приводить к нарушению контроля деления клетки и увеличению частоты полисомии. В исследовании средний сигнал HER2 возрастал при увеличении количества сигнала CEP17 (p=0,023 для CEP17≥3<3,5 и p<0,001 для CEP17≥3,5). Таким образом, доля HER2-положительных случаев РМЖ увеличивалась с выраженностью полисомии 17 хромосомы: 33,3% (без полисомии), 55,0% (CEP17≥3<3,5) и 68,8% (CEP17≥3,5). Наличие кластерного характера сигналов гена HER2/neu также зависело от количества CEP17 (p<0,001). Кластерная амплификация HER2/neu чаще наблюдалась при выраженной полисомии CEP17≥3,5 (p<0,001). Отношение шансов (ОШ=9,167; 95% ДИ: 2,901 – 41,703) подтверждает, что полисомия 17 хромосомы существенно повышает вероятность кластерного характера сигналов HER2. При анализе связи полисомии с поражением лимфоузлов обнаружено, что в группе с CEP17≥3,5 чаще встречались метастазы в регионарные лимфоузлы (стадии N+), при этом HER2-статус не показал статистически значимых различий между группами (p=0,237). Это позволяет предположить, что полисомия 17 хромосомы может быть самостоятельным предиктором лимфогенного распространения. Возможно, данный эффект связан с другими генами, локализованными на 17 хромосоме, такими как TOP2A или p53, которые также могут влиять на агрессивность опухоли. Показатель Ki67 был значимо выше в группе без полисомии по сравнению с группой с выраженной полисомией (CEP17≥3,5): медиана 30,0 против 19,0 (p=0,044, критерий Манна—Уитни), что может указывать на нарушенный клеточный цикл и замедление скорости деления клетки. Обнаружена статистически значимая (p=0,032) слабая отрицательная корреляция (ρ=-0,243) между средним сигналом CEP17 и уровнем Ki67, подтверждает ранее обнаруженную тенденцию к более низким значениям Ki67 при увеличении полисомии 17 хромосомы.

Заключение. Результаты исследования демонстрируют, что выраженная полисомия 17 хромосомы связана с более старшим возрастом пациенток, кластерной амплификацией HER2 и повышенным риском метастазирования в лимфатические узлы при РМЖ. Полученные данные подчеркивают важность комплексного анализа молекулярных характеристик опухоли, в том числе для стратификации пациентов и разработки персонализированных стратегий.

АССОЦИИРОВАННЫЕ С НЕЙРОТОКСИЧНОСТЬЮ И НЕЙРОПРОТЕКЦИЕЙ микроРНК: СВЯЗЬ С ЛЕКАРСТВЕННО-ИНДУЦИРОВАННОЙ ПОЛИНЕЙРОПАТИЕЙ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПЛАТИНО- И ТАКСАНОСОДЕРЖАЩИХ СХЕМ ХИМИОТЕРАПИИ

NEUROTOXICITY AND NEUROPROTECTION-ASSOCIATED microRNAs: ASSOCIATION WITH DRUG-INDUCED POLYNEUROPATHY IN PLATINUM- AND TAXANE-BASED CHEMOTHERAPY

Юнусова Н.В.[1,2], Сваровский Д.А. [1,2], Джугашвили Е.И. [3], Тамкович С.Н.[3,4]
E-mail: Bochkarevanv@oncology.tomsk.ru

[1]НИИ онкологии Томский НИМЦ, г. Томск, Россия
[2]Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия
[3]Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск, Россия
[4]Институт онкологии и нейрохирургии НМИЦ им. академика Е.Н. Мешалкина, г. Новосибирск, Россия

Введение. Полихимиотерапия не обладает специфичностью действия только на опухолевые клетки, поэтому у пациентов могут возникать осложнения, обусловленные токсическим действием препаратов. Лекарственно-индуцированная полинейропатия (ЛИПНП) как медико-социальная проблема стоит остро, она развивается более чем у 70% больных при применении широкого спектра современных цитостатиков (препараты платины, таксаны, винкаалкалоиды).

Цель исследования – проанализировать потенциал miRNA в качестве возможных предикторов ЛИПНП в контексте использования нейротоксичных схем полихимитерапии рака.

Материалы и методы. Для поиска использовалась база данных HMDD 4.0 (Human microRNA Disease Database, China) в комбинации с mirTarBase и STRING Database. В поиске были использованы следующие ключевые слова: periferal nervous system, spinal ganglion, sensory neuron, shwan cell, neuroinflammation, demyelination, shwan cell damage, sensory neuron damage, taxanes, taxol, oxaliplatin, paclitaxel, vinca alkaloids, vincristine, vinblastine.

Результаты. Всего было отобрано 13 кандидатных микроРНК. Окончательный отбор проведен с использованием собственной бальной системы. Проведен анализ взаимодействия белков, кодируемых генами, регулируемыми при различных комбинациях отобранных микроРНК. Проведен сравнительный анализ функций белков, кодируемых генами, регулируемыми выбранными кандидатными микроРНК с помощью библиотеки PANTER Classification System 8.0 (National Science Foundation, USA.

Выводы. Выявлены микроРНК, наиболее перспективные в качестве предикторов ЛИПНП, в том числе с учетом данных о присутствии микроРНК во внеклеточных везикулах. Результаты поиска могут быть использованы также при создании препаратов для коррекции ЛИПНП в эксперименте.

Научное издание

III международная конференция

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В ТРАНСЛЯЦИОННОЙ БИОМЕДИЦИНЕ

г. Томск, 3–5 июня 2025 г.

Сборник материалов

Под редакцией проф. Ю.Г. Кжышковска

Корректор А.Ю. Коломийцев
Технический редактор О.В Коломийцева
Верстка А.А. Рогова

Издательство СибГМУ
634050, г. Томск, пр. Ленина, 107
тел. +7 (3822) 901–101, доб. 1760
E-mail: izdatelstvo@ssmu.ru

Электронное издание

ПАРТНЕРЫ КОНФЕРЕНЦИИ

ТОМСКИЙ НИМЦ

СПОНСОРЫ КОНФЕРЕНЦИИ

SE ANA

БИОХИМИЧЕСКИЙ БАЗАР

БГА
БиоГен-Аналитика
ваши задачи - наши решения
www.bga.su

helicon

Generium
Pharmaceuticals

AlaMed

BioLine
группа компаний

Подробнее о конференции

Наведите
камеру на QR,
чтобы перейти
в телеграм-канал