

ваний. Использование массива пептидов со случайными аминокислотными последовательностями позволяет определять изменения репертуара антител, не ограничиваясь специфичностью к известным опухолеассоциированным антигенам. Идеология технологии иммуносигнатур заключается в определении панели пептидов, реагирующих на антитела, находящиеся в сыворотках онкологических больных. Основная гипотеза предполагает, что репертуар антител, присутствующих в циркуляции (иммуносигнатуры) у пациентов с различными онкологическими заболеваниями, различается. Мы считаем, что использование иммуносигнатур может не только обеспечить раннюю диагностику онкологических заболеваний, но и поможет при классификации биологических подтипов опухолей.

*Шойхет Я.Н., Гофман А.А., Лазарев А.Ф., Лазарева Д.Г., Мальцева М.В.*

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ *BRCA 1*, *BRCA 2* ПРИ НАСЛЕДСТВЕННОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В АЛТАЙСКОМ КРАЕ**

КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер», г. Барнаул, Россия

Ежегодно в мире регистрируется 10 млн новых случаев рака и более 6,2 млн случаев смерти от заболеваний этой группы. От 5 до 40% злокачественных новообразований всех анатомических локализаций имеют наследственную этиологию, и этот процент возрастает в связи с ростом общей заболеваемости.

Рак молочной железы (РМЖ) является самой распространенной онкологической патологией у женщин. Как в мире, так и в России, несмотря на значительный прогресс в разработке подходов к диагностике и лечению РМЖ, в течение последних десятилетий заболеваемость, распространенность и смертность от РМЖ остаются стабильно высокими и имеют тенденцию к росту.

В последние годы установлено, что возникновение РМЖ связано с нарушением генетического и гормонального контроля над ростом клеток в молочной железе. Именно эти нарушения определяют степень злокачественности, метастатический потенциал и скорость прогрессии опухоли. Более того, было доказано, что кроме приобретенного заболевания существует еще и предрасположенность к развитию РМЖ. Таким образом, было выделено понятие наследственные опухолевые синдромы.

Наследственный РМЖ является самой частой разновидностью семейных онкологических заболеваний. Его вклад в общую встречаемость РМЖ составляет примерно 5–10%.

В нашу научно-исследовательскую работу было включено 1177 женщин, из них 377 женщин с верифицированным РМЖ, количество близких родствен-

ников в данной группе с раком молочной железы, яичника, желудка и кишечника было 3 и более; 350 женщин со sporadическим РМЖ; 150 женщин с отягощенным семейным онкологическим анамнезом, из которых у 110 в ходе исследования выявлен РМЖ; 300 женщин – без онкологической патологии. В ходе работы определялись факторы риска, молекулярно-генетические маркеры наследственной предрасположенности к РМЖ.

В молекулярно-генетической лаборатории КГБУЗ Алтайского краевого онкологического диспансера пациентам, включенным в научно-исследовательскую работу, было проведено исследование крови на определение наличия мутаций в генах *BRCA 1*, *BRCA 2*. Из 577 человек положительный результат был получен у 45, что составляет 13,1% от общего количества обследованных.

Основной целью нашей работы является формирование программ скрининга и профилактики развития наследственных форм рака.

*Шойхет Я.Н.<sup>1,3</sup>, Петрова В.Д.<sup>2,3</sup>, Синкина Т.В.<sup>2,3</sup>, Димитриади Ю.Н.<sup>2</sup>, Михеева Н.А.<sup>2</sup>, Соколова Е.А.<sup>2</sup>, Клейменова Н.В.<sup>2</sup>, Шаповал А.И.<sup>1</sup>, Лазарев А.Ф.<sup>1,2,3</sup>*

## **ВОЗМОЖНОСТИ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ С ПОМОЩЬЮ ИММУНОСИГНАТУР. ПЕРВЫЕ КЛИНИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ**

<sup>1</sup>ФГОУ ВПО «Алтайский государственный университет»,  
<sup>2</sup>КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер»;  
<sup>3</sup>Алтайский филиал ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина»; г. Барнаул, Россия

Актуальность ранней диагностики злокачественных новообразований не вызывает сомнений, так как показатели онкологической заболеваемости и смертности занимают ведущие лидирующие позиции. В 2014 г. был организован Российско-Американский противораковый центр (РАПРЦ) на базе Алтайского государственного университета и Алтайского краевого онкологического диспансера совместно с Алтайским филиалом РОНЦ им. Н.Н. Блохина (Российская Федерация) и Центром инновационной медицины Университета штата Аризона (США).

**Целью** деятельности РАПРЦ является организация и проведение фундаментальных и прикладных научных исследований в области биологии и медицины, а более конкретно – поиск методики для ранней диагностики рака.

Основными направлениями деятельности РАПРЦ является разработка и валидация инновационных технологий ранней диагностики онкологических заболеваний с использованием иммуносигнатур.

**Материал и методы.** В отличие от общепринятой редукционной парадигмы определения единичных биомаркеров, иммуносигнатура опирается на мультиплексную систему, в которой тестируются антитела, вырабатываемые в ответ на молекулярные изменения, связанные с развитием опухолей. Технология основана на микрочипе, на поверхность которого нанесены пептиды со случайными аминокислотными последовательностями. Для теста требуется менее 1 мкл плазмы крови. Разведенная плазма (1:500) распределяется по всей поверхности пептидного микрочипа, антитела в плазме избирательно связываются с отдельными пептидами, образуя портрет иммунной активности – иммуносигнатуру. Специфические иммуносигнатуры характеризуют развитие определенного типа опухолей. Технически диагностика с помощью иммуносигнатур отличается простотой в выполнении на первом этапе: в день исследования пациенту можно принимать пищу, у него независимо от времени суток берут каплю крови (для исследования достаточно менее 1 мкл плазмы крови), которую наносят на микрочип.

Практически с 24.07.14 по 21.11.14 были собраны углубленные сведения (данные фено- и генотипа – углубленное анкетирование) и забрана кровь на иммуносигнатуру у пациентов, имеющих ранние (I и II) стадии рака легкого – 70 человек; рака молочной железы (РМЖ) – 99 пациенток; у пациентов, свободных от рака (группа доноров, контрольная группа) – 86 пациентов. Протестированы 10 пациенток со злокачественными новообразованиями (ЗНО) молочной железы и 15 женщин, свободных от рака. Средний возраст пациенток с РМЖ составил  $58 \pm 18$  лет; средний возраст пациенток группы контроля –  $46 \pm 6$  лет.

#### Результаты.

При углубленном анализе иммуносигнатур обнаружен 141 информативный пептид, определяющий достоверную разницу между здоровыми пациентами и больными РМЖ ( $p < 0,001$ ). Индивидуальные иммуносигнатуры были представлены тепловыми цветными картами, где красный цвет показывал повышенную реактивность сывороточных антител с указанными пептидами и был обнаружен у пациенток с РМЖ, а зеленый – сниженную реактивность, соответственно отсутствие ЗНО.

В процессе исследования были выявлены три нехарактерных случая: два – среди больных РМЖ и один – в группе доноров. У больных РМЖ результаты иммуносигнатуры соответствовали иммуносигнатуре здоровых доноров, и, наоборот, результаты иммуносигнатуры здоровой пациентки были идентичны результатам онкологических больных. При углубленном анализе были выявлены факторы, которые могли бы объяснить данные изменения.

#### Заключение.

Получены первые положительные клинические результаты использования метода иммуносигнатур для ранней диагностики злокачественных новообразований, достоверность которых позволяет продолжать данное исследование.

*Янкович К.И.<sup>1</sup>, Дмитриева А.И.<sup>1,2</sup>, Кузнецова И.А.<sup>1</sup>, Ракутин С.С.<sup>1,2</sup>, Рачковский К.В.<sup>1,2</sup>, Комарова С.В.<sup>2</sup>*

## ЯВЛЕНИЕ ПОТЕРИ ГЕТЕРОЗИГОТНОСТИ В ГЕНЕ *P21* (*A1026G* И *G369C*) У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; <sup>2</sup>ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер», г. Томск, Россия

**Актуальность.** Продукт гена *p21* является супрессорным белком, который препятствует делению клетки, блокируя продвижение по постсинтетической фазе G2 и вход в митоз. Ген *p21* является одной из основных мишеней транскрипционного действия *p53*, ключевого регулятора, который может координировать процесс репарации либо индуцировать апоптоз. Поэтому любые изменения в функционировании гена *p21* могут нарушить неустойчивое равновесие механизмов, регулирующих клеточный цикл, и оказать онкогенное влияние.

**Задачи исследования** – провести анализ потери гетерозиготности в гене *p21* (*A1026G* и *G369C*) в ткани опухоли легкого.

**Материал и методы.** В работе исследовано 93 парных ДНК-образца, полученных из операционного материала (опухолевая ткань легкого и соответствующие им образцы гистологически не измененной легочной паренхимы) больных центральным раком легкого. Выделение геномной ДНК проводили из парафиновых блоков с использованием коммерческого набора FF-PET DNA kit (Qiagen, Германия), следуя инструкции производителя. Парафиновые срезы, полученные методом стереотактической диссекции под контролем световой микроскопии, депарафинизировали с использованием ксилола и этанола. Поиск потери гетерозиготности биаллельных локусов гена *p21* (*A1026G* и *G369C*) проводили путем сравнительного генотипирования опухолевой ткани и ткани, взятой на границе резекции. Типирование образцов по полиморфизмам исследуемого гена проводили путем ПЦР-ПДРФ (полимеразная цепная реакция-полиморфизм длины рестрикционных фрагментов)-анализа. Продукты ПДРФ анализировали в 4% агарозном геле с добавлением бромистого этидия и визуализировали в проходящем УФ-свете.

**Результаты.** Исследование *A1026G*-полиморфизма гена *p21* обнаружило явление потери гетерозиготности в данном локусе при раке легкого. Анализ показал статистически значимое ( $p=0,005$ ) увеличение частоты встречаемости гомозиготного AA-генотипа (73,12%) и уменьшение частоты гетерозиготного AG-генотипа (13,98%) в опухолевой ткани по сравнению с таковыми показателями в нормальной ткани (55,91 и 34,41% соответственно). Различий в распределении генотипов гена *p21 G369C* между опухолевой и нормальной тканью легкого выявлено не было.

**Заключение.** Показано явление потери гетерозиготности для полиморфизма *A1026G* гена *p21* у больных раком легкого. В этом случае снижается транскрипционная активность супрессорного гена за счет утраты протективного G-аллеля.