

**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.